

**NACHWEIS UND BESTIMMUNG VON
2,3-DIHYDRO-3,5-DIHYDROXY-6-METHYL-4H-
PYRAN-4-ON, 2-HYDROXYACETYLFURAN
UND ANDEREN
ZUCKERUMWANDLUNGSPRODUKTEN IN
MODELLREAKTIONEN UND LEBENSMITTELN**

Wolfgang Schnell

1975

NACHWEIS UND BESTIMMUNG
VON 2,3-DIHYDRO-3,5-DIHYDROXY-6-METHYL-4H-PYRAN-4-ON,
2-HYDROXYACETYLFURAN UND ANDEREN ZUCKERUMWANDLUNGS-
PRODUKTEN
IN MODELLREAKTIONEN UND LEBENSMITTELN

I N A U G U R A L - D I S S E R T A T I O N

zur Erlangung des Doktorgrades
des Fachbereichs Chemie und Pharmazie
der Ludwig-Maximilians-Universität in München



vorgelegt von
Wolfgang Schnell
München

München 1975



Berichterstatter: Prof. Dr. Th. Severin

Mitberichterstatter: Prof. Dr. F. Eiden

Tag der mündlichen Prüfung: 25.11.1975

Die vorliegende Arbeit wurde auf Anregung und unter Anleitung
von

Herrn Professor Dr. Theodor Severin
angefertigt. Für die jederzeit verständnisvolle Unterstützung
und wohlwollende Förderung danke ich Herrn Professor
Dr. Th. Severin herzlich.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41551911_0060

Einleitung	1
Erste Abtheilung	2

1. Die Natur der Dichtung	3
2. Die Aufgabe der Dichtung	4
3. Die Gattungen der Dichtung	5
4. Die Dichtung als Kunst	6
5. Die Dichtung als Wissenschaft	7
6. Die Dichtung als Religion	8
7. Die Dichtung als Politik	9
8. Die Dichtung als Philosophie	10
9. Die Dichtung als Geschichte	11
10. Die Dichtung als Geographie	12
11. Die Dichtung als Astronomie	13
12. Die Dichtung als Meteorologie	14
13. Die Dichtung als Zoologie	15
14. Die Dichtung als Botanik	16
15. Die Dichtung als Mineralogie	17
16. Die Dichtung als Chemie	18
17. Die Dichtung als Physik	19
18. Die Dichtung als Mathematik	20
19. Die Dichtung als Logik	21
20. Die Dichtung als Ethik	22
21. Die Dichtung als Psychologie	23
22. Die Dichtung als Pädagogik	24
23. Die Dichtung als Medizin	25
24. Die Dichtung als Jurisprudenz	26
25. Die Dichtung als Theologie	27
26. Die Dichtung als Philosophie	28
27. Die Dichtung als Wissenschaft	29
28. Die Dichtung als Kunst	30
29. Die Dichtung als Religion	31
30. Die Dichtung als Politik	32
31. Die Dichtung als Philosophie	33
32. Die Dichtung als Geschichte	34
33. Die Dichtung als Geographie	35
34. Die Dichtung als Astronomie	36
35. Die Dichtung als Meteorologie	37
36. Die Dichtung als Zoologie	38
37. Die Dichtung als Botanik	39
38. Die Dichtung als Mineralogie	40
39. Die Dichtung als Chemie	41
40. Die Dichtung als Physik	42
41. Die Dichtung als Mathematik	43
42. Die Dichtung als Logik	44
43. Die Dichtung als Ethik	45
44. Die Dichtung als Psychologie	46
45. Die Dichtung als Pädagogik	47
46. Die Dichtung als Medizin	48
47. Die Dichtung als Jurisprudenz	49
48. Die Dichtung als Theologie	50
49. Die Dichtung als Philosophie	51
50. Die Dichtung als Wissenschaft	52
51. Die Dichtung als Kunst	53
52. Die Dichtung als Religion	54
53. Die Dichtung als Politik	55
54. Die Dichtung als Philosophie	56
55. Die Dichtung als Geschichte	57
56. Die Dichtung als Geographie	58
57. Die Dichtung als Astronomie	59
58. Die Dichtung als Meteorologie	60
59. Die Dichtung als Zoologie	61
60. Die Dichtung als Botanik	62
61. Die Dichtung als Mineralogie	63
62. Die Dichtung als Chemie	64
63. Die Dichtung als Physik	65
64. Die Dichtung als Mathematik	66
65. Die Dichtung als Logik	67
66. Die Dichtung als Ethik	68
67. Die Dichtung als Psychologie	69
68. Die Dichtung als Pädagogik	70
69. Die Dichtung als Medizin	71
70. Die Dichtung als Jurisprudenz	72
71. Die Dichtung als Theologie	73
72. Die Dichtung als Philosophie	74
73. Die Dichtung als Wissenschaft	75
74. Die Dichtung als Kunst	76
75. Die Dichtung als Religion	77
76. Die Dichtung als Politik	78
77. Die Dichtung als Philosophie	79
78. Die Dichtung als Geschichte	80
79. Die Dichtung als Geographie	81
80. Die Dichtung als Astronomie	82
81. Die Dichtung als Meteorologie	83
82. Die Dichtung als Zoologie	84
83. Die Dichtung als Botanik	85
84. Die Dichtung als Mineralogie	86
85. Die Dichtung als Chemie	87
86. Die Dichtung als Physik	88
87. Die Dichtung als Mathematik	89
88. Die Dichtung als Logik	90
89. Die Dichtung als Ethik	91
90. Die Dichtung als Psychologie	92
91. Die Dichtung als Pädagogik	93
92. Die Dichtung als Medizin	94
93. Die Dichtung als Jurisprudenz	95
94. Die Dichtung als Theologie	96
95. Die Dichtung als Philosophie	97
96. Die Dichtung als Wissenschaft	98
97. Die Dichtung als Kunst	99
98. Die Dichtung als Religion	100
99. Die Dichtung als Politik	101
100. Die Dichtung als Philosophie	102

Meiner Mutter und dem Andenken
meines Vaters gewidmet

1. Die Natur der Dichtung	3
2. Die Aufgabe der Dichtung	4
3. Die Gattungen der Dichtung	5
4. Die Dichtung als Kunst	6
5. Die Dichtung als Wissenschaft	7
6. Die Dichtung als Religion	8
7. Die Dichtung als Politik	9
8. Die Dichtung als Philosophie	10
9. Die Dichtung als Geschichte	11
10. Die Dichtung als Geographie	12
11. Die Dichtung als Astronomie	13
12. Die Dichtung als Meteorologie	14
13. Die Dichtung als Zoologie	15
14. Die Dichtung als Botanik	16
15. Die Dichtung als Mineralogie	17
16. Die Dichtung als Chemie	18
17. Die Dichtung als Physik	19
18. Die Dichtung als Mathematik	20
19. Die Dichtung als Logik	21
20. Die Dichtung als Ethik	22
21. Die Dichtung als Psychologie	23
22. Die Dichtung als Pädagogik	24
23. Die Dichtung als Medizin	25
24. Die Dichtung als Jurisprudenz	26
25. Die Dichtung als Theologie	27
26. Die Dichtung als Philosophie	28
27. Die Dichtung als Wissenschaft	29
28. Die Dichtung als Kunst	30
29. Die Dichtung als Religion	31
30. Die Dichtung als Politik	32
31. Die Dichtung als Philosophie	33
32. Die Dichtung als Geschichte	34
33. Die Dichtung als Geographie	35
34. Die Dichtung als Astronomie	36
35. Die Dichtung als Meteorologie	37
36. Die Dichtung als Zoologie	38
37. Die Dichtung als Botanik	39
38. Die Dichtung als Mineralogie	40
39. Die Dichtung als Chemie	41
40. Die Dichtung als Physik	42
41. Die Dichtung als Mathematik	43
42. Die Dichtung als Logik	44
43. Die Dichtung als Ethik	45
44. Die Dichtung als Psychologie	46
45. Die Dichtung als Pädagogik	47
46. Die Dichtung als Medizin	48
47. Die Dichtung als Jurisprudenz	49
48. Die Dichtung als Theologie	50
49. Die Dichtung als Philosophie	51
50. Die Dichtung als Wissenschaft	52
51. Die Dichtung als Kunst	53
52. Die Dichtung als Religion	54
53. Die Dichtung als Politik	55
54. Die Dichtung als Philosophie	56
55. Die Dichtung als Geschichte	57
56. Die Dichtung als Geographie	58
57. Die Dichtung als Astronomie	59
58. Die Dichtung als Meteorologie	60
59. Die Dichtung als Zoologie	61
60. Die Dichtung als Botanik	62
61. Die Dichtung als Mineralogie	63
62. Die Dichtung als Chemie	64
63. Die Dichtung als Physik	65
64. Die Dichtung als Mathematik	66
65. Die Dichtung als Logik	67
66. Die Dichtung als Ethik	68
67. Die Dichtung als Psychologie	69
68. Die Dichtung als Pädagogik	70
69. Die Dichtung als Medizin	71
70. Die Dichtung als Jurisprudenz	72
71. Die Dichtung als Theologie	73
72. Die Dichtung als Philosophie	74
73. Die Dichtung als Wissenschaft	75
74. Die Dichtung als Kunst	76
75. Die Dichtung als Religion	77
76. Die Dichtung als Politik	78
77. Die Dichtung als Philosophie	79
78. Die Dichtung als Geschichte	80
79. Die Dichtung als Geographie	81
80. Die Dichtung als Astronomie	82
81. Die Dichtung als Meteorologie	83
82. Die Dichtung als Zoologie	84
83. Die Dichtung als Botanik	85
84. Die Dichtung als Mineralogie	86
85. Die Dichtung als Chemie	87
86. Die Dichtung als Physik	88
87. Die Dichtung als Mathematik	89
88. Die Dichtung als Logik	90
89. Die Dichtung als Ethik	91
90. Die Dichtung als Psychologie	92
91. Die Dichtung als Pädagogik	93
92. Die Dichtung als Medizin	94
93. Die Dichtung als Jurisprudenz	95
94. Die Dichtung als Theologie	96
95. Die Dichtung als Philosophie	97
96. Die Dichtung als Wissenschaft	98
97. Die Dichtung als Kunst	99
98. Die Dichtung als Religion	100
99. Die Dichtung als Politik	101
100. Die Dichtung als Philosophie	102

Inhaltsverzeichnis

THEORETISCHER TEIL	Seite
Beschreibung der Melanoidine	1
Pyrolyse von Kohlenhydraten	5
Liste leichtflüchtiger Zersetzungsprodukte der Glucose (Tabelle 1)	6
Liste der Aromen von Zuckerkaramellisierungs- und Dehydratisierungsprodukten (Tabelle 2)	10
Maillard-Reaktionen	11
Säure- und basenkatalysierte Zuckerumwandlung	16
Karamellaromastoffe in Nahrungsmitteln	17
Bisher bekannte gaschromatographische Analysenverfahren zur Trennung von Zuckerumwandlungsprodukten	19
Auftreten und Eigenschaften von 4-Hydroxy-5-methyl-2, 3- Dihydrofuran-3-on und von 2, 3-Dihydro-3, 5-Dihydroxy- 6-methyl-4H-pyran-4-on	21
Auftreten und Eigenschaften von 5-Hydroxymethyl-2-fural- dehyd	21
Auftreten und Eigenschaften von 2-Hydroxyacetyl-furan	22
Auftreten und Eigenschaften von Isomaltol	24
Auftreten und Eigenschaften von Maltol	26
Entwicklung eines Analysenverfahrens zur Trennung von Zuckerabbauprodukten	29
I. <u>Karamellisierung von Zucker</u>	33
Karamellisierung von Saccharose	33
Karamellisierung von Glucose	37
Isolierung und Identifizierung von Di-furfural-2-methyl- äther	39
Karamellisierung von Fructose	41

Karamellisierung von Maltose	43
Karamellisierung von Lactose	45
Übersichtstabelle A	48
 II. <u>Umsetzung von Zucker mit Methylammoniumacetat</u>	49
Umsetzung von Glucose mit Methylammoniumacetat im Mol.-Verhältnis 1,6 : 1	49
Isolierung und Identifizierung von 3,5-Dihydroxy-6-methyl- 4H-pyran-4-on	49
Umsetzung von Glucose mit Methylammoniumacetat im Mol.-Verhältnis 6 : 1	52
Umsetzung von Saccharose mit Methylammoniumacetat im Mol.-Verhältnis 3 : 1	54
Umsetzung von Maltose mit Methylammoniumacetat im Mol.-Verhältnis 3 : 1	54
Umsetzung von Lactose mit Methylammoniumacetat im Mol.-Verhältnis 3 : 1	57
Übersichtstabelle B	59
 III. <u>Umsetzung verschiedener Zucker mit einer Aminosäure (Alanin)</u>	60
Umsetzung von Glucose mit Alanin im Mol.-Verhältnis 60 : 1	61
Umsetzung von Glucose mit Alanin im Mol.-Verhältnis 6 : 1	63
Umsetzung von Lactose mit Alanin im Mol.-Verhältnis 3 : 1	63
Übersichtstabelle C	65
Übersichtstabelle D	67
Umsetzung von Saccharose mit Alanin im Mol.-Verhältnis 3 : 1	67
Übersichtstabelle E	69
Umsetzung von Maltose mit Alanin im Mol.-Verhältnis 3 : 1	69
Übersichtstabelle F	70
Übersichtstabelle G	71
Umsetzung von Glucose mit Casein im Gewichtsverhältnis 10 : 1	73
Übersichtstabelle H	73

	Seite
IV. <u>Untersuchung von Lebensmitteln auf den Gehalt an 2,3-Dihydro-3,5-Dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on, Maltol, Isomaltol, 2-Hydroxyacetylfuran und 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd</u>	75
Untersuchung von dunklem Biermalz	75
Untersuchung von Starkbier	76
Untersuchung von diastatischem Malzextrakt	78
Untersuchung von Karamelbonbons	80
Untersuchung von gebrannten Mandeln	83
Untersuchung von Brotkruste	85
Untersuchung von bitterer Schokolade	86
Übersichtstabelle I	90
Zusammenfassung	91
Literaturverzeichnis	93
EXPERIMENTELLER TEIL	97
Gaschromatographische Trennung von 5-Hydroxy-methyl-2-furaldehyd, 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on, 2-Hydroxyacetylfuran, Maltol und Isomaltol auf QF1-Säule	98
Gaschromatographische Trennung von 5-Hydroxy-methyl-2-furaldehyd, 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on, 2-Hydroxyacetylfuran, Maltol und Isomaltol auf SE-52-Säule	99
Karamellisierung von Saccharose und Untersuchung der Reaktionsprodukte	100
Karamellisierung von Glucose und Untersuchung der Reaktionsprodukte	100
Isolierung von Difurfural-2-methyl-äther	101
Karamellisierung von Fructose und Identifizierung der Reaktionsprodukte	102
Karamellisierung von Maltose und Untersuchung der Reaktionsprodukte	103
Karamellisierung von Lactose und Untersuchung der Reaktionsprodukte	103

	Seite
Umsetzung von Glucose mit Methylammoniumacetat im Mol.-Verhältnis 1,5 : 1	104
Umsetzung von Glucose mit Methylammoniumacetat im Mol.-Verhältnis 6 : 1	105
Isolierung von 3,5-Dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on	105
Umsetzung von Saccharose mit Methylammoniumacetat im Mol.-Verhältnis 3 : 1	106
Umsetzung von Maltose mit Methylammoniumacetat im Mol.-Verhältnis 3 : 1	106
Umsetzung von Lactose mit Methylammoniumacetat im Mol.-Verhältnis 3 : 1	107
Umsetzung von Glucose mit DL-Alanin im Mol.-Verhältnis 60 : 1	107
Umsetzung von Glucose mit DL-Alanin im Mol.-Verhältnis 6 : 1	108
Umsetzung von Lactose mit DL-Alanin im Mol.-Verhältnis 3 : 1	109
Umsetzung von Saccharose mit DL-Alanin im Mol.-Verhältnis 3 : 1	109
Umsetzung von Maltose mit DL-Alanin im Mol.-Verhältnis 3 : 1	110
Umsetzung von Glucose mit Casein im Gew.-Verhältnis 10 : 1	110
Untersuchung von dunklem Biermalz	111
Untersuchung von Starkbier	112
Untersuchung von diastatischem Malzextrakt	112
Untersuchung von Karamelbonbons	113
Untersuchung von gebrannten Mandeln	114
Untersuchung von Brotkruste	114
Untersuchung von bitterer Schokolade	115

THEORETISCHER THEIL

Neben den natürlichen und den synthetisch hergestellten Aromen spielt die Gruppe der Aromastoffe in Lebensmitteln eine wesentliche Rolle, die man durch Erhitzungsverfahren, d.h. beim Rösten, Backen oder Braten erzeugt. Erstmals hat L.C. Maillard (1) beschrieben, dass beim Erhitzen einer Lösung eines reduzierenden Zuckers mit einer Aminosäure eine Braunfärbung auftritt. Auf diese Weise entstehen die meisten Bräunungen und Röstaromen in erhitzten Lebensmitteln (2). Allerdings reagieren Zucker auch in Abwesenheit von Aminosäuren und unter dem katalytischen Einfluss von Säuren oder Basen zu braunen Pigmenten, den sog. Melanoidinen. Im Gegensatz zur Maillard-Reaktion tritt die thermische Zersetzung von Zuckern zu braunen Pigmenten und Verbindungen mit karamelartigem Geschmack erst bei wesentlich höheren Temperaturen ein. Für diese Vorgänge wurde der Überbegriff "nichtenzymatische Bräunung" geprägt - während die enzymatische Oxidation von Polyphenolen und Aminosäuren als "enzymatische Bräunung" bekannt ist. Die enzymatische Bräunung kann z.B. beim Zerkleinern von Früchten beobachtet werden.

Die nichtenzymatische Bräunung spielt in der Lebensmitteltechnologie eine wesentliche Rolle, denn die meisten Lebensmittel enthalten reduzierende Zucker, freie Aminosäuren und Proteine. Ein typisches Beispiel ist das Brotbacken: bei der Herstellung von Pumpernickel lassen niedrige Temperaturen eine langanhaltende Aktivität der stärkeabbauenden Enzyme zu; dadurch entsteht ein hoher Zuckergehalt, der während des Backvorganges auch im Innern des Brotes zu starker Bräunung führt. Weiterhin enthalten Süßigkeiten wie Bonbons, Schokolade und Zuckerkaramel Produkte aus nichtenzymatischen Bräunungsreaktionen. Die geschmackanregenden Aromen frischgebackenen Brotes - vor allem der Brotkruste - von Kaffee, gebrannten Erdnüssen und auch von Bier, werden weitgehend bei der nichtenzymatischen Bräunung gebildet.

In vielen Fällen sind jedoch die Vorgänge der nichtenzymatischen Bräunung unerwünscht, da die Melanoidinbildung die Lebensmittel unansehnlich macht, den Geschmack verdirbt und den Nährwert durch Eiweissabbau mindert. Die Verfärbung und geschmackliche Beeinträchtigung von Konserven bei zu warmer Lagerung, bei Fruchtsäften und getrockneten Früchten, beim Eindampfen von Milch bzw. bei der Lagerung von Milchpulver sind typische Beispiele dafür. Man versucht die Melanoidinbildung in einigen Fällen, z.B. durch die Zugabe von Bisulfit zu inhibieren.

Nach der Entdeckung von Maillard hat eine rege Forschungstätigkeit über die Bildung und Zusammensetzung der Melanoidine eingesetzt. Die Reaktion, die zur Entstehung der braunen Pigmente führt und die gleichzeitig die Bildung der mehr oder weniger flüchtigen Aromastoffe bewirkt, ist von Interesse, um die bei Hitzeeinwirkung ablaufenden Prozesse zu klären. Erst anhand dieser Kenntnisse wird es möglich sein, entsprechende Kontrollmöglichkeiten für Aroma, Geschmack, Farbe und Haltbarkeit der Lebensmittel, sowie deren Nährwert, zu entwickeln. Trotz vieler bekannter Einzelheiten ist es bisher nicht gelungen, einen umfassenden Einblick in die bei der Melanoidinbildung ablaufenden Reaktionsmechanismen, die zu hochmolekularen Gebilden führen, zu erhalten. Referate von G.P. Ellis (2), T.M. Reynolds (4, 5), J.E. Hodge (6), Fagerson (7), Heyns und Paulsen (8), fassen das bisherige Wissen über die Bräunungsreaktionen zusammen. C. Enders (9) berichtet über Maillard-Reaktionen bei der Bildung von Huminsäure (Vermoderung, Torfbildung) in der Natur.

Kohlenhydrate karamellisieren oberhalb von etwa 120°C , Aminosäuren werden erst bei noch höheren Temperaturen im wesentlichen decarboxyliert; bei Maillard-Reaktionen entstehen bereits bei niedrigeren Temperaturen (50°C - 70°C) aus Zuckern und Aminosäuren die braunen Melanoidine.

Nach C.O. Chicester (10) bilden sich aus Zuckern und Aminosäuren bei verschiedenen Temperaturen verschiedene wasserlösliche oder wasserunlösliche Pigmente mit unterschiedlichen Summenformeln. Mit der Abhängigkeit vom pH-Wert beschäftigten sich andere Autoren; dabei stellten sie fest, dass z.B. in einem Gemisch von Glycin und Glucose bei steigendem pH-Wert die Aminogruppen rascher abnehmen. Ebenso ist der Wassergehalt für den Ablauf der Reaktionen ausschlaggebend; nach den Versuchen von M.L. Wolfron und C.S. Rooney (11) liegt der für optimale Bräunung günstigste Wassergehalt bei ca. 30%, dagegen konnte bei einem Wassergehalt von mehr als 90% oder aber im wasserfreien Zustand bei niederen Temperaturen keine auffällige Bräunung festgestellt werden; H. Kato (12) kommt zu ähnlichen Ergebnissen.

Über die Reaktivität verschiedener Zucker und Aminosäuren findet man Veröffentlichungen einiger Autoren z.B. von W. Diemayer und E. Jury (13), die alle zu dem Ergebnis kommen, dass die Reaktivität der Zucker von der freien Verfügbarkeit ihrer Carbonylgruppen abhängt. Dementsprechend ist Saccharose Reaktionsträger; eine zunehmende Reaktivität lässt sich von den Hexosen zu den Pentosen feststellen. Nach den bisherigen Untersuchungen sind die Aminogruppen der Aminosäuren - nicht deren Carboxylgruppen - an den Bräunungsreaktionen beteiligt. Daher kommt den basischen Aminosäuren wie Lysin und Ornithin wegen der zweiten nicht im Molekül gebundenen Aminogruppe besondere Bedeutung zu (14); diese freie, aus dem Molekülverband herausragende Aminogruppe bietet sich für Reaktionen mit Carbonylgruppen z.B. von Zuckern an. Auch der Aminosäure Tryptophan wird wegen des sehr reaktionsfähigen Indolrings in der Seitenkette in diesem Zusammenhang Bedeutung beigemessen.

C. Enders (15) stellt ganz allgemein fest, dass die Melanoidinbildung nicht auf die Reaktion zwischen Zuckern und Aminosäuren beschränkt ist, sondern immer zwischen Stoffen mit freier Carbonylgruppe und Stoffen mit Aminogruppe eintreten kann.

Untersuchungen zur Aufklärung der Struktur der Pigmente wurden in grossem Umfang durchgeführt. Bereits L.C. Maillard hat aus dem Reaktionsgemisch von Glucose und Glycin ein wasserunlösliches Pigment isoliert und dazu eine Bruttoformel angegeben. Später wurde von verschiedenen Autoren immer wieder versucht, Bruttoformeln von Pigmenten aus Maillard-Reaktionen aufzustellen.

T.M. Reynolds (16) hat z.B. die Reaktionsprodukte der Umsetzung von Glucose mit Glycin auf einer mit Dextran gefüllten Säule getrennt; er kam zu ähnlichen Ergebnissen wie andere Autoren, die Pigmente durch Dialyse abtrennten und feststellten, dass nach längerer Reaktionsdauer weniger Pigmente dialysierbar sind.

Die auf diese Arten isolierten Pigmente weisen im IR-Bereich ausgeprägte Hydroxyl-, Carbonyl- und C=C-Banden auf; die Absorptionsmaxima im UV-Bereich liegen bei 290 und 270 m μ . H.D. Cremer und E. Menden (17) glauben auf Grund der Zähigkeit von Melanoidinlösungen auf langgestreckte Makromoleküle schliessen zu können, die auch aromatische Verbindungen enthalten. Alle Untersuchungen dieser Art lieferten jedoch nur Bruchstücke ohne erkennbaren Zusammenhang. Erfolgversprechender erscheinen die Versuche von Th. Severin und U. Krönig (18), polymere Melanoidinsubstanzen durch Oxidationsmittel in niedermolekulare Bruchstücke zu spalten oder die Versuche verschiedener Forschergruppen, Reaktionsmechanismen der verschiedenen Bräunungsreaktionen zu postulieren und Zwischenprodukte der Melanoidinbildung in Form ihrer Derivate oder mittels der GC-MS-Technik

zu erfassen. Vor allem durch die kombinierte Anwendung von Gaschromatographie und Massenspektrometrie konnte in den letzten Jahren eine Vielzahl leichtflüchtiger Verbindungen identifiziert werden, die bei nichtenzymatischen Bräunungsreaktionen entstehen.

Pyrolyse von Kohlenhydraten

Bereits H. Trillat berichtet (19, 20, 21, 22), dass bei der Karamellisierung von Rohrzucker Formaldehyd, Methanol, Aceton, Essigsäure, Phenole und Benzaldehyd entsteht. G. Klein (23) wies Formaldehyd in heissen Lösungen der gebräuchlichen Zucker in Form des Dimedonderivates nach. Ausserdem stellte H. Trillat fest, dass der grösste Teil des Formaldehydes im Karamelrückstand kondensiert. Wie zuerst Emil Fischer und später E. Mariani und G. Torracco (24) sowie Rückert und Mitarbeiter (25) berichten, lassen sich durch das Erhitzen von Formalin mit Alkali eine Anzahl von Aldo- und Ketohexosen darstellen; diese Formaldehyd-Umsetzungsprodukte weisen nach Trillat Farbe, Geschmack und Geruch von Rohrzucker-Karamel auf. Wie N.A. Ramaiah (26) auf papierchromatographischem Weg und später D.J. Bryce und L.T. Greenwood (27) mittels Gaschromatographie feststellten, sind die bei 300°C entstehenden flüchtigen Pyrolyseprodukte von Rohrzucker, Maltose, Glucose und von Stärke weitestgehend identisch. Eine systematische Untersuchung und der Nachweis von 130 leichtflüchtigen Zuckerumwandlungsprodukten führten K. Heyns, R. Stute, H. Paulsen (8) aus; 56 von 130 nachgewiesenen Verbindungen konnten identifiziert werden (siehe Tabelle 1). K. Heyns und Mitarbeiter haben für diese Untersuchung D-Glucose 4 Stunden auf 300°C erhitzt; 47% bis 50% der ursprünglich eingesetzten Zuckermenge fielen als schwarzbrauner Zersetzungsrückstand an, weitere 45% bis 48% wurden in 3 Fraktionen als flüchtige Verbindungen aufgefangen - nicht erfasst

Leichtflüchtige Zersetzungs-
produkte der D-Glucose

Acetaldehyd	Hexanon-3
Propionaldehyd	Penten-3-on-2
Furan	Hexanon-2
Aceton	2.3.5-Trimethylfuran
Acrolein	Penten-2-al-1
Iso-Butyraldehyd	2-Methyl-5-isopropylfuran
Methacrolein	Pentadien-1,3-al-5
n-Butyraldehyd	2-Methyl-5-vinylfuran
2-Methylfuran	Athylbenzol
Butanon-2	2-Methyl-5-n-propylfuran
3-Methylfuran	2.5-Diäthylfuran
Buten-3-on-2	p-Xylol
Butandion-2,3	m-Xylol
3-Methylbutanon-2	cis-2-Propenyl-furan
Benzol	trans-2-Propenyl-furan
3-Methylbuten-3-on-2	o-Xylol
Pentanon-2	Cyclopentanor
2-Äthylfuran	Furan-3-aldehyd
Crotonaldehyd	cis-2-Methyl-5-propenylfuran
2.5-Dimethylfuran	Furfurol
Pentanon-3	1.3.5-Trimethylbenzol
Pentandion-2,3	
2-Vinylfuran	
Toluol	
2-n-Propylfuran	
2-Methyl-5-äthylfuran	

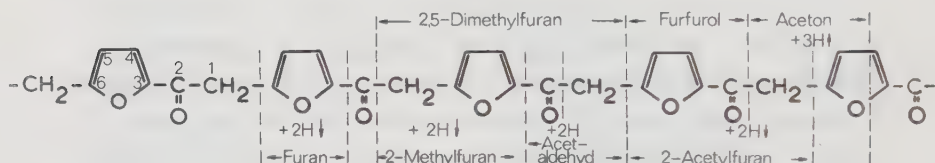
TABELLE 1

wurden die Gase CO_2 , CO , CH_4 . Bryce und Greenwood (27) erhitzen bei ihrem Modellversuch D-Glucose 18 Stunden im Vakuum auf 300°C , wobei weniger Zersetzungsrückstand, dagegen ein erheblich höherer Anteil flüchtiger Stoffe anfiel.

Die Versuche von K. Heyns und Mitarbeitern ergaben als Hauptmenge - nämlich 40% - Wasser aus Dehydratisierungsreaktionen; unter den organischen Verbindungen im Pyrolysedestillat war 1,4 : 3,6 Dianhydro-D-Glucopyranose (etwa 2%) mengenmässig am stärksten vertreten, gefolgt von 1,6 Anhydro- β -D-Glucopyranose (0,5 - 1%) und schliesslich noch in vergleichbarer Menge Furfurol. Nur 0,3% des Pyrolyseumsatzes entfiel auf ein Gemisch leichtflüchtiger Substanzen, die in einem fortgeschrittenen Stadium der Pyrolyse durch Dehydratisierungs-, Polymerisierungs- und Spaltungsreaktionen entstanden sind. Dominiert in dem Komplex leichtflüchtiger Substanzen sind die Furane. 24 Furane wurden nachgewiesen, wovon 20 verschieden substituierte Verbindungen eindeutig identifiziert werden konnten. Unterschiede in der Produktverteilung nach verschiedenen Pyrolysezeiten wurden ebenso nachgewiesen wie die Tatsache, dass die thermisch stabileren Anfangsglieder jeder Reihe in grösserer Konzentration als die nächstfolgenden Glieder auftreten. Auffällig ist, dass 2,5 substituierte Furane und Furane mit ungesättigten Seitenketten zwar in geringerer Menge als die unsubstituierte Verbindung, aber deutlich bevorzugt gegenüber den anderen Furanhomologen auftreten.

Sowohl in der zitierten wie in einer späteren Arbeit weist K. Heyns auf das bevorzugte Auftreten und die Bedeutung von Furankörpern als Bausteine bei der Polymerbildung hin. K. Heyns und R. Hauber (28) haben ^{14}C -markierte Sorbose mittels konzentrierter Salzsäure in braune Polymere überführt und thermisch fragmentiert. Die Pyrolyseprodukte wurden kapillargaschromatographisch getrennt und radiogaschromato-

graphisch identifiziert. Vor allem 2-Hydroxyacetylfuran aber auch 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd sollen die Bausteine sein, die durch Polykondensation Makromoleküle folgender Struktur geben:



Tatsächlich polymerisiert 2-Hydroxyacetylfuran in salzsaurer Lösung schnell zu einem braunen Produkt, dessen Pyrogramm mit dem des Sorbosebräunungspolymerisates nahezu identisch ist; mit diesen Versuchen konnten die Verfasser ausserdem nachweisen, dass 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd zwar auftritt, aber keine entscheidende Rolle bei der Sorbosebräunungspolymerisation spielt.

Über die Pyrolyse von Glucose bei 150°C während 2 Stunden und die anschliessende Isolierung von Laminaribiose, Maltose, Cellobiose, Isomaltose, Gentiobiose und 1,6-Anhydroglucose in Form der kristallinen Acetate, sowie die Identifizierung von Isomaltotriose berichten H. Sugisawa und H. Edo (29). Qua und Fagerson (30) identifizierten u.a. Furfurol und Hydroxymethyl-2-furaldehyd als flüchtige Verbindungen, die bei einminütigem Erhitzen von Glucose auf 250°C unter Luftzutritt entstehen. C. T. Greenwood, J. H. Knox und E. Milne (31) haben Stärke, Zellulose, Sucrose und Maltose sowie Hemicellulose und Algin-säure in Stickstoffatmosphäre bei 300°C pyrolytisch zersetzt und unter diesen Bedingungen auch nur ca. 0,2% flüchtige Bestandteile wie z.B. 2-Methylfuran, Methanol, Aceton/Acrolein, Propionaldehyd, Furan, Acetaldehyd, Kohlendioxid und Wasser gaschromatographisch nachgewiesen.

Bryce und Greenwood (32) haben in einer weiteren Arbeit unter denselben Reaktionsbedingungen aus der Umsetzung von Saccharose, Glucose, Maltose, Isomaltose, Stärke und Zellulose verschiedene Aldehyde und Ketone sowie Furan, 2-Methylfuran und 2,5-Dimethylfuran erhalten.

Bollmann und Schmidt-Berg (33) untersuchten die Zersetzungsprodukte von trocken erhitztem Rohrzucker und fanden Glucose (bei 130°C , 15 min.), Fructose und deren Anhydride (160°C) sowie 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd (über 170°C) Ausserdem befanden sich unter den gebildeten Di- und Trisacchariden verschiedene Fructosane. Lukesch (34) erwärmte Saccharose auf 150°C - nach der Extraktion mit organischen Lösungsmitteln konnte er papierchromatographisch Glucose, Fructose, Glycerinaldehyd, Dihydroxyaceton, Brenztraubensäure und Methylglyoxal sowie wiederum 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd nachweisen. J. E. Hodge (6) stellte die in Tabelle 2 wiedergegebene Liste von Kohlenhydratpyrolyseprodukten zusammen, die nach seiner Meinung regelmässig auftreten (Tabelle 2).

In der betreffenden Veröffentlichung betont J.E. Hodge ebenfalls, dass nur 0,2% des thermisch zersetzten Zuckers als flüchtige Bestandteile anfallen. Einige der in der Tabelle angeführten Substanzen wurden bereits durch Reichstein und Beitter (35) 1930 in gerösteter, nicht fermentierter Zichorie gefunden, später noch von Gianturco und Mitarbeiter (36) neben anderen Furanen im Kaffeearomakomplex.

Es kann angenommen werden, dass die Karamellisierung in folgenden Reaktionsschritten erfolgt: zunächst tritt die Enolisierung der Carbonylgruppe ein. Im weiteren Reaktionsverlauf entstehen durch Dehydratisierung Osone, aus denen sich unter Ringbildung und wiederholte Dehydratisierung Verbindungen wie Maltol, 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd u.a. bilden können.

Aromen von Zucker-Karamellisierungs- und Dehydratisierungsreaktionen

Verbindung	Formel	Farbe	Geruch	Geschmack
Kohlenmonoxid, -dioxid	CO, CO_2	keine	keiner	kein
Formaldehyd	H-CHO	keine	stechend	-
Ameisensäure	H-COOH	keine	schmerzd.	sauer
Acetaldehyd	CH_3CHO	keine	aufdringl.	-
Essigsäure	CH_3COOH	keine	stechend, schmerztl.	sauer
Glycolaldehyd	$\text{HO-CH}_2\text{-CHO}$	keine	kein	süss
Glyoxal	CHO-CHO	gelb	stechend	süss
Glyoxylsäure	CHO-COOH	keine	erstickend	sauer
2-Hydroxypropion- aldehyd	$\text{CH}_3\text{-CHOH-CHO}$	keine	keiner	bitter
Milchsäure	$\text{CH}_3\text{-CHOH-COOH}$	keine	keiner	sauer
Acrolein	$\text{CH}_2=\text{CH-CHO}$	keine	scharf	
Acrylsäure	$\text{CH}_2=\text{CH-COOH}$	keine	scharf	sauer
Methylglyoxal	$\text{CH}_3\text{-CO-CHO}$	gelb	stechend, brennend	sauer
Brenztraubensäure	$\text{CH}_3\text{-CO-COOH}$	gelb	essigähnl.	sauer
Aceton	$\text{CH}_2\text{-CO-CH}_3$	keine	"charak- teristisch"	süss brennend
Acetol	$\text{CH}_3\text{-CO-CH}_2\text{OH}$	keine	"charak- teristisch"	süss brennend
Dihydroxyaceton	$\text{HO-CH}_2\text{-CO-CH}_2\text{OH}$	keine	"charak- teristisch"	süss kühlend
Glyzerinaldehyd	$\text{HO-CH}_2\text{-CHOH-CHO}$	keine	keiner	süss
Triose-Reduktion	HO-CH=C(OH)-CHO	keine	keiner	sauer
Mesoxalsäure- dialdehyd	$\text{CHO-C(OH)}_2\text{-CHO}$	gelb	wie verbr. Zucker b. Erhitzen	
Acetoin	$\text{CH}_3\text{-CHOH-CO-CH}_3$	keine	angenehm	süsslich
Diacetyl	$\text{CH}_3\text{-CO-CO-CH}_3$	grün- gelb	chininartig chlorartig	scharf
Hydroxydiacetyl	$\text{CH}_3\text{-CO-CO-CH}_2\text{-OH}$	orange- gelb	süsslich	

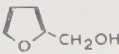
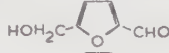
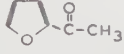
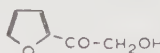
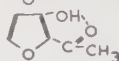
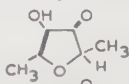
C-Methyltriase- reduktion	$\text{CH}_3\text{-CO-C(OH)=CH-OH}$	keine		
Lävulinsäure	$\text{CH}_3\text{-CO-(CH}_2\text{)=COOH}$	keine	keiner	sauer
Furan		keine	ätherartig	
2-Methylfuran		keine	ätherartig	
2,5-Dimethylfuran		keine	"charak- teristisch"	
Furfurylalkohol		keine	"charak- teristisch"	bitter
Furansäure		keine	stechend	sauer
2-Furaldehyd		keine	"charak- teristisch"	süß
5-Methyl-2-furaldehyd		keine	wie 2-Fural- dehyd	
5-Hydroxymethyl- 2-furaldehyd		keine	keiner	bitter, adstringrd.
2-Furyl-methyl-keton		keine	angenehm, ketonartig	brennend, süßlich
2-Hydroxyacetylfuran		keine	keiner	brennend, süßlich
Isomaltol		keine	verbrannt, stechend, fruchtig	süß, sauer, fruchtig
5-Hydroxy-2,5-dimethyl- -3(2H) furanon		keine	fruchtig, karamellart.	brennend, süß
Reduktinsäure		keine	keiner	sauer
1-Methylcyclopentenol(2)-on(3)		keine	duftend	süß
Maltol		keine	duftend, karamellart.	bitter süßlich

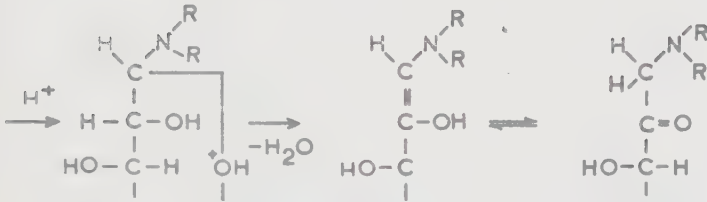
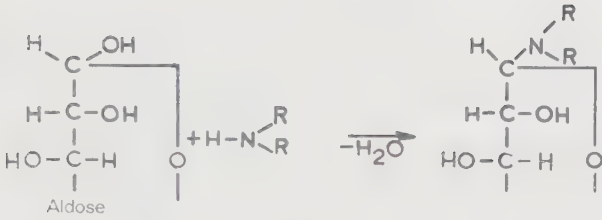
TABELLE 2

Gleichzeitig laufen noch andere Reaktionen ab, wie die hydrolytische Spaltung von Furanaldehyden oder ihren intermediären Vorstufen zu Ameisensäure, Lävulinsäure usw.; weiterhin kann die Spaltung von 2-Ketosen zu Dihydroxyaceton und Glyceraldehyd oder aber von Aldosen zu Glykolaldehyd und C_4 -Kohlenstoffverbindungen führen. Daneben laufen z.B. Kondensationsreaktionen von Aldehyden und Ketonen, Dimerisation von Fructose zu Difructosylanhydrid, Dehydratisierung von Aldosen zu Glykosiden oder die Enolisierung und Dehydratisierung der synthetischen Oligosaccharide ab. H. Sugisawa und K. Sudo (37) war es möglich, bei der thermischen Zersetzung von Glucose bei $150^{\circ}C$ in neutralem Medium und ohne Katalysator das Auftreten von Osonen als Zwischenstufe des Reaktionsablaufes durch Bildung der Diphenylhydrazone nachzuweisen. Auf die Bedeutung der Osone sowohl bei der Bildung flüchtiger Zuckerabbauprodukte wie auch bei der Melanoidinbildung wird bei der Erörterung des Ablaufes der Maillard-Reaktionen hingewiesen.

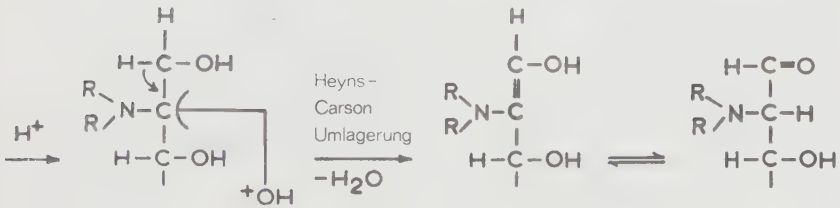
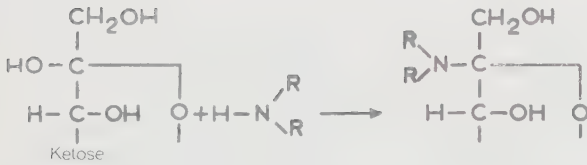
Maillard-Reaktionen

Über den Mechanismus der Maillard-Reaktionen d.h. im einfachsten Fall über die Umsetzungen von Aminen mit Zuckern, sind zahlreiche ausführliche Veröffentlichungen erschienen und einigen Forschergruppen ist es gelungen, Zwischenprodukte der Reaktionen zu isolieren (siehe Schema A).

Primär entstehen bei der Kondensation von Aminosäuren mit Aldosen unter Säurekatalyse Glycosylamine, die enolisieren und in einer Amadori-Umlagerung (38, 39) in 1-Amino-1-desoxy-2-Ketosen übergehen. Ketosen bilden unter den gleichen Reaktionsbedingungen mit Aminosäuren Ketosylamine, die in einer Heyns-Carson-Umlagerung (40) zu 2-Desoxy-2-aminoaldosen reagieren. Dagegen können die Amadori-Umlagerungsprodukte auf verschiedene Weise reagieren (siehe Schema B).



Amadoriumlagerung



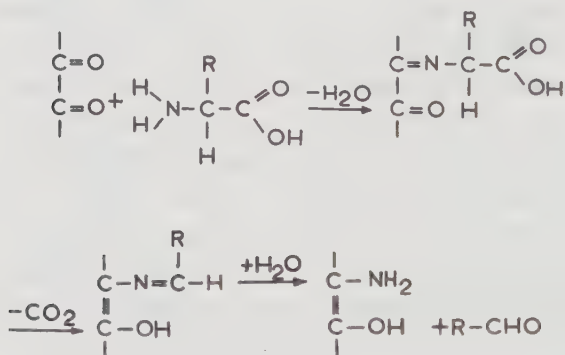
Heyns-
Carson
Umlagerung

Schema A

Ein möglicher Reaktionsweg führt über das 1,2-Enaminol durch Abspaltung einer Hydroxylgruppe am C_3 -Atom zum 3-Desoxyhexoson; in einem zweiten Reaktionsweg enolisiert zunächst die 1-Amino-1-desoxy-2-ketose zum 2,3-Endiol und bildet dann unter Verlust der Aminogruppe am C_1 -Atom die 2,3-Dicarbonylverbindung (Hodge (41), Simon (42), Hodge (43), Simon und Heubach (44)). Bei beiden Reaktionswegen folgt dann Wasserabspaltung zu ungesättigten Dicarbonyl-Verbindungen; diese Verbindungen können im weiteren Reaktionsablauf unter Wasserabspaltung sowie unter Reaktion mit Aminen Melanoidine bilden. Eine weitere Möglichkeit liegt bei dem ersten Reaktionsweg in einer Wasserabspaltung, die zur Entstehung von 2-Furaldehyden (z.B. 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd) führen kann. Im zweiten Reaktionsweg können ebenfalls durch Wasserabspaltung Aldehyde, Ketoaldehyde und Reduktone gebildet werden. Es ist sicher, dass Osone als Intermediärstufe sowohl bei der Zuckerumwandlung in Abwesenheit von Aminen unter Säure- oder Basenkatalyse (46), wie auch bei der thermischen Zuckerumwandlung (Karamellisierung) eine wesentliche Rolle für die Bildung brauner Pigmente spielen. Ohne Amin-Komponente sind drastischere Reaktionsbedingungen z.B. höhere Säure- bzw. Basenkonzentrationen notwendig, um die Entstehung von Osonen zu ermöglichen. Auch Maltol entsteht aus Maltose sowohl unter Hitze- einwirkung (45), wie auch unter schonenderen Bedingungen in Gegenwart von Aminokomponenten [Patton (46), (43)]. G. Machell und G.N. Richards (47) bestätigten die Vermutung von J.U. Nef (48), dass bei der Bildung von Metasaccharinsäure aus Glucose durch Alkalieinwirkung 3-Desoxyglucose intermediär entsteht.

Die Osone sind ausserdem Hauptkomponenten der Strecker-Spaltung, die wesentlichen Anteil am komplexen Ablauf der Maillard-Reaktionen hat. Diese oxidative Desaminierung von Aminosäuren in Verbindung mit der bereits von L.C. Maillard beobachteten CO_2 -Abspaltung wurde

von A. Schönberg und R. Moubacher (49) eingehend erforscht; es entstehen reaktionsfreudige Enamine und Aldehyde, die in Folge-reaktionen miteinander oder mit anderen Zuckelumwandlungsprodukten zu braunen Pigmenten kondensieren können.



J. S. Cole (50) stellte fest, dass einerseits die CO_2 -Entwicklung proportional zur Menge der entstehenden braunen Pigmente wie auch zur Bildung von ungesättigten Dicarbonylverbindungen ist, dass aber andererseits ein Teil des CO_2 auf bisher noch ungeklärte Weise entsteht.

Säure- Basen- katalysierte Zuckerumwandlung

Wie bereits erwähnt, erfolgt die Bräunung von Zuckern auch unter Säure- bzw. Basenkatalyse - zumindest die Reaktionsschritte sind dem Mechanismus der Karamellisierung und dem der Maillard-Reaktionen sehr ähnlich. Auf diese Weise wird z.B. Furfural gross-technisch aus Pentosanen hergestellt.

Karamelaromastoffe in Nahrungsmitteln

Karamellisierung, Maillard-Reaktionen und säure- bzw. basenkatalysierte Zuckerumwandlungen laufen beim Erhitzen oder Rösten von Lebensmitteln nebeneinander ab; dies kann aus dem Vorkommen seltener Anhydrozucker in Röstprodukten geschlossen werden. Anhydrozucker werden beim trockenen Erhitzen von Kohlenhydraten gebildet - sie konnten bisher jedoch nicht unter den Bedingungen der Maillard-Reaktion nachgewiesen werden. H. Streuli (51) behauptet, dass sich die Bräunungsvorgänge beim Rösten nicht grundsätzlich von denen in wässriger Lösung unterscheiden.

Seit Jahrzehnten versuchen Forschergruppen die Aromastoffe von gerösteten Naturprodukten wie z.B. Kaffee, Kakao, Erdnüssen usw. zu identifizieren. Bainbridge und Davies (52) extrahierten z.B. aus 2000 kg gerösteten Kakaobohnen 24 ml eines Öls, das den Geruch von Kakao und den Geschmack von Koriander aufwies; sowohl Bainbridge und Davies wie viele andere Forschergruppen versuchten mit den klassischen Analysemethoden die Aromastoffe und Zuckerumwandlungsprodukte zu identifizieren. Aber erst die fortgeschrittene Entwicklung hochempfindlicher Analysenverfahren, vor allem der Gaschromatographie in Verbindung mit der Infrarot- und Massenspektroskopie, ermöglichte in den letzten 10 bis 15 Jahren grundlegende Fortschritte.

Von Terence A. Rohan (53) wurde 1969 eine Abhandlung über das Aroma von Kakao mit den einleitenden Worten veröffentlicht, dass mehr als 200 leichtflüchtige Substanzen, unter ihnen zahlreiche Aldehyde, Ketone, Furane, Pyrrole, Pyrazine im Kakao-Aroma bekannt sind; jedoch gibt der Autor über den Gehalt an schwererflüchtigen Zuckerumwandlungsprodukten in gerösteten Kakaobohnen keine Auskunft, obwohl er die Bedeutung der weniger flüchtigen Substanzen für das Aroma und den Geschmack betont. B. van der Wal (54) und Mitarbeiter isolierten gaschromatographisch 181 Komponenten aus dem Lösungsmittel-extrakt von Kakaopulver und identifizierten die Substanzen anhand von Spektren; 112 der Substanzen wurden erstmals von dieser Arbeitsgruppe gefunden. Aber auch diese Arbeit war nur auf die Analytik leichtflüchtiger Substanzen ausgerichtet - das Gemisch der von den Autoren identifizierten Substanzen war bestenfalls annäherungsweise dem Aroma des ursprünglichen Kakao-extraktes ähnlich - das typische Aroma fehlte jedoch. Auch zur Erforschung der Zusammensetzung des Kaffeearomas wurden zahlreiche Untersuchungen durchgeführt und in den verschiedenen Arbeiten der letzten Zeit wird über 468 leichtflüchtige Bestandteile des Kaffeearomas berichtet, ohne dass einer der Verfasser in Anspruch nimmt, alle oder zumindest die wichtigsten Bestandteile des Kaffee-Aroma-Komplexes erfasst zu haben. Wesentliches haben Gianturco (36, 55) und Mitarbeiter zur Erforschung des Kaffeearomakomplexes beigetragen. Gianturco berichtet über Verbindungen mit 2 bis 5 Kohlenstoffatomen als Zuckerspaltprodukte im Kaffeearomakomplex; diese Bruchstücke können wiederum miteinander reagieren. Ausserdem wurden von Gianturco 16 Furankörper identifiziert sowie cyclische Ketone und Maltol als typische Zuckerumwandlungsprodukte neben stickstoffhaltigen Maillard-Produkten.

Durch die kombinierte Anwendung von Gaschromatographie und Massenspektrometrie war es möglich, innerhalb kurzer Zeit eine sehr grosse Zahl leichtflüchtiger thermischer Zuckerumwandlungs- und Maillardprodukte sowohl in Modellreaktionen wie auch in Lebensmitteln zu erfassen; der qualitative und annäherungsweise quantitative Nachweis von Zuckerabbauprodukten mittlerer Flüchtigkeit bereitet allerdings wegen der Polarität und thermischen Labilität dieser Substanzen unvergleichbar grössere Schwierigkeiten. So wurden die schwererflüchtigen Substanzen bei weitem nicht so eingehend untersucht, obwohl es Anzeichen dafür gibt, dass diese wichtige Aromabestandteile sind.

R.H. Walter und J.S. Fagerson (56) berichten über ihren Versuch, schwererflüchtige Verbindungen aus der thermischen Zersetzung von Glucose bei 150°C ebenfalls mittels Gaschromatographie und daran anschliessender Massenspektrometrie zu erfassen. Nach dem Erhitzen des Zuckers, Destillation der flüchtigen Reaktionsprodukte aus der Retorte und anschliessender Ätherextraktion trennten sie 100 Substanzen - darunter auch C₇-Furankörper (Propylfuran, Methylacetylfuran und 1-(2-furyl)-propan-1,2-dion) - auf einer mit einer Mischung aus Diäthylenglykolsuccinat und 2%iger Phosphorsäure beschichteten Kapillarsäule. Auch R.H. Walter und J.S. Fagerson geben keine detaillierte Auskunft über das Auftreten einiger wichtiger Zuckerumwandlungsprodukte, die wesentlich die Bildung des Karamelgeschmackes beeinflussen dürften, wie Maltol, Isomaltol und 2-Hydroxyacetylfuran.

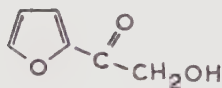
Bisher bekannte gaschromatographische Analysenverfahren zur Trennung von Zuckerabbauprodukten

Es ist bekannt, dass die Belastbarkeit von Kapillarsäulen ausserordentlich gering ist; erfahrungsgemäss darf die Probemenge auf Kapillarsäulen 2 μg nicht übersteigen, wenn die Konzentrationsverhältnisse in der stationären Phase mit denen bei gefüllten Säulen vergleichbar sein sollen. Beim Aufbringen grösserer Flüssigkeitsproben auf Kapillarsäulen ist die Zerstörung des Films zu befürchten; allein schon an die Dosiertechnik (0,1 μg Gas), aber auch an die Einspritztechnik werden somit Anforderungen gestellt, die bei umfangreichen Reihenuntersuchungen unbekannter Gemische mittelflüchtiger Zuckerabbau- bzw. Maillardprodukte kaum zu erfüllen sind.

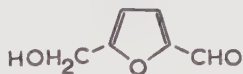
P.E. Shaw, J.H. Tatum und R.E. Berry (57, 58) trennten die Reaktionsprodukte von säure- und basenkatalysierten Fructose-Abbaureaktionen nach Ätherextraktion auf Silicon- (SE 30) und Polyäthylenoxid (20M) - beschichteten Säulen; auch G.R. Jurch und J.H. Tatum (59) bedienten sich dieses Verfahrens bei der Trennung der Reaktionsprodukte, die bei der Umsetzung von D-Glucose mit Methylammoniumacetat entstehen.

Es erschien von Interesse, wichtige Verbindungen, die regelmässig und zum Teil in grösseren Mengen als Reaktionsprodukte thermischer oder säure- bzw. basenkatalysierter Zuckerabbaureaktionen wie vor allem auch der Maillard-Reaktionen auftreten und in Folgereaktionen für die Melanoidinbildung bedeutungsvoll sein dürften, systematisch zu erfassen. Die gaschromatographische Trennung auf Kapillarsäulen ist aus den genannten Gründen nicht brauchbar. Bei der von P.E. Shaw und Mitarbeitern sowie von J.H. Tatum und Mitarbeitern angewandten Methode stellte sich bei meinen Untersuchungen nach kurzer Zeit heraus, dass das rotbraune, zähflüssige Öl, das als Extraktionsrückstand ohne zusätzliche Aufbereitung untersucht werden sollte, die Trennsäulen des

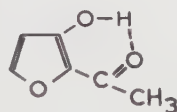
Gaschromatographen innerhalb kurzer Zeit verunreinigt und die Trennwirkung schnell irreversibel verschlechtert. Auch die hohen Trägergasströmungsgeschwindigkeiten (120 bzw. 180 ml/min.) führten bei den von mir verwendeten Gaschromatographen häufig zu Störungen, d.h. die Flamme des Flammenionisationsdetektors konnte nicht stabilisiert werden. Ich habe ein analytisches Verfahren ausgearbeitet, das die einfache, routinemässige Bestimmung wichtiger, schwererflüchtiger Zuckerumwandlungsprodukte ermöglicht. Den Verbindungen 2-Hydroxyacetylfuran (3), 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd (4), 3-Hydroxy-2-acetylfuran (Isomaltol) (1), 3,5-Dihydroxy-2-methyl-4H-pyran-4-on (Maltol) (2), 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on (5) gilt entweder auf Grund ihres verbreiteten Auftretens oder aber wegen der geringen Kenntnisse, die bisher über sie vorliegen, besonderes Interesse.



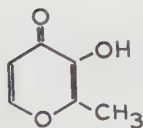
2-Hydroxyacetylfuran
(3)



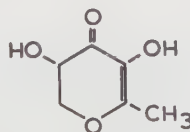
5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd
(4)



Isomaltol
(1)



Maltol (2)



2,3 Dihydro-3,5 dihydroxy- 6-methyl-4H-pyran-4 on
(5)

Auftreten und Eigenschaften von 4-Hydroxy-5-methyl-2,3-dihydrofuran-3-on und von 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on

4-Hydroxy-5-methyl-2,3-dihydrofuran-3-on wurde von Th. Severin und W. Seilmeier (60) aus dem Reaktionsgemisch der Umsetzung von Methylammoniumacetat mit Pentosen in Wasser durch Extraktion mit Methylenchlorid und daran anschliessende Destillation im Hochvakuum gewonnen. Analog führten Th. Severin und W. Seilmeier später die Umsetzung mit Glucose und Methylammoniumacetat durch; aus den Reaktionsprodukten konnten sie 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on isolieren (61, 62). Diese Verbindung wurde von P.E. Shaw und Mitarbeitern aus Orangensaftpulver isoliert und auch in dem Gemisch saurer und basenkatalysierter Fructoseabbaureaktionen nachgewiesen. Erst durch die Arbeit von J.E. Hodge und Mitarbeitern, die diese Substanz bei der Pyrolyse von 1-deoxy-1(L-prolino)-D-fructose erhielten, konnte die Struktur eindeutig als 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on geklärt werden (63). Nach der Aussage von J.E. Hodge kommt dieser Verbindung besondere Bedeutung bei der Bildung des typischen Aromas von gedarrtem Getreide und als bisher einzigem Dihydropyron unter den Maillard-Produkten zu.

Anhand der Erfahrungen aus Modellreaktionen konnte geschlossen werden, dass 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on auch in Lebensmitteln anzutreffen ist. Systematische Untersuchungen über das Vorkommen der Verbindung wurden bisher nicht durchgeführt.

Auftreten und Eigenschaften von 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd

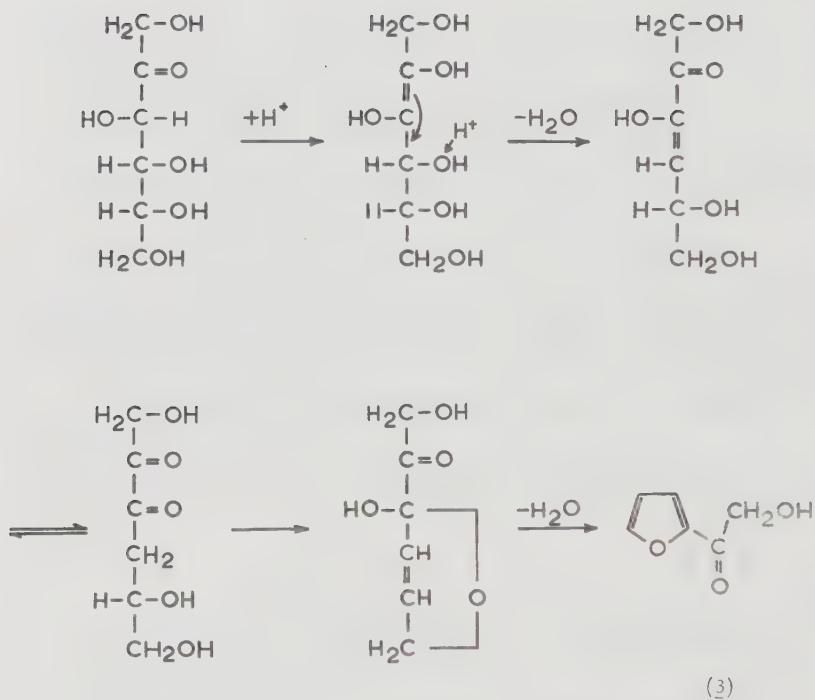
Erheblich umfangreicher wird in der Literatur über die Entstehung und das Vorkommen von 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd berichtet. Neben 2-Furaldehyd wurde 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd in den flüchtigen Bestandteilen z.B. des Brotes, der Brotkruste und der Brotkrume gefunden; beide Verbindungen sind die beständigsten der Brotaldehyde (64),

5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd ist nur wenig flüchtig und geruchlos. Reichstein und Beitter (35) isolierten die Verbindung aus trocken destillierter Zichorie. Seilmeier (60) erhielt 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd neben 2-Hydroxyacetylfuran beim trockenen Erhitzen von Saccharose, 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd - entstanden bei der Inversion von Saccharose - ist ein charakteristischer Bestandteil von Kunsthonig (Cl. Franske und Mitarbeiter (65)); auch in erhitzten Fruchtsäften kann 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd nachgewiesen werden. Der Bildungsmechanismus von 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd wurde durch zahlreiche Arbeiten (Isbell (66), Anet (68, 69)) geklärt.

5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd ist gegen Säuren instabil und zerfällt leicht in Lävulinsäure und Ameisensäure.

Auftreten und Eigenschaften von 2-Hydroxyacetylfuran

Auch für die Bildung von 2-Hydroxyacetylfuran aus Glucose haben L. T. Kovats und A. Rajky (70) einen Reaktionsweg vorgeschlagen, der dem für die Entstehung von Furfurol und 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd aus Aldosen ähnlich ist und dessen wesentliches Merkmal die Eliminierung der Hydroxylgruppe in β -Stellung zu einer Carbonylgruppe nach vorangegangener Enolisierung der Ketoverbindung ist.



Bildung von 2-Hydroxyacetylfulan

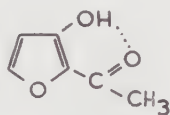
Schema D

Erstmals wurde 2-Hydroxyacetylfulan von L. T. Kovats und A. Rajky (70) in Glucoselösungen, die auf 130°C erhitzt wurden, in geringen Mengen papierchromatographisch neben 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd, Dihydroxyaceton und Methylfurfural nachgewiesen. Wie bereits erwähnt, haben Heyns und Hauber (28) 2-Hydroxyacetylfulan bei der Bräunung von Sorbose gewonnen, ebenso Th. Severin und W. Seilmeier (60) bei der Karamellisierung von Saccharose.

Untersuchungen über das qualitative und quantitative Auftreten dieser wichtigen Zuckerumwandlungssubstanz in Relation zu anderen Zuckerbräunungsprodukten sind nicht veröffentlicht worden.

Auftreten und Eigenschaften von Isomaltol

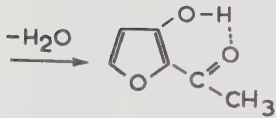
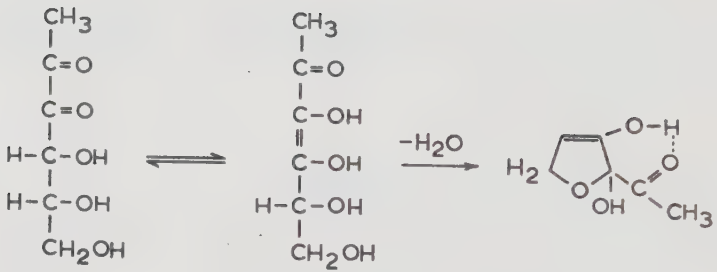
Ein weiteres wichtiges Zuckerumwandlungsprodukt ist 2-Acetyl-3-hydroxyfuran (Isomaltol). Isomaltol wurde erstmals als Bestandteil der Kruste von Milchbrot und aus dem Dampfdestillat von Bisquit-Mehl neben Maltol von A. Backe (71) isoliert. Nach Hodge und Nelson (72) lässt sich Isomaltol durch Umsetzung von Lactose mit Piperidinacetat in Äthanol bei 75°C darstellen; dabei entsteht zunächst Isomaltol- β -D-galactopyranosid, das durch Hydrolyse oder Pyrolyse in Isomaltol überführt werden kann. Die Struktur des Isomaltols, von dem A. Backe ursprünglich annahm, dass es sich um ein γ -Pyron ähnlich dem Maltol handelt, wurde erst von Fisher und Hodge (73) aufgeklärt:



(1)

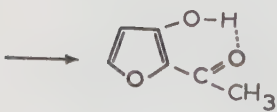
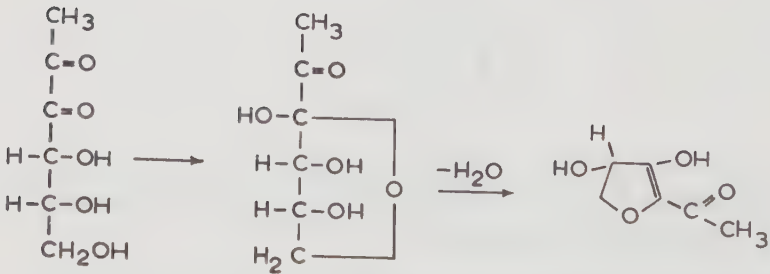
Für die Bildung von Isomaltol kann man Reaktionswege wie in Schema E gezeigt annehmen (siehe Schema E).

Nicht erklärt werden kann mit diesen Mechanismen, warum Isomaltol bevorzugt aus reduzierenden Disacchariden (wie im übrigen auch das später beschriebene Maltol) entsteht. Isomaltol besitzt ein Aroma, das an trocken erhitzten Zucker erinnert; in Verdünnung entwickelt Isomaltol einen angenehmen würzig-karamelartigen Geruch, ähnlich wie er bei frischem, mit Milch hergestelltem Brot auftritt. Isomaltol entsteht während



Reaktionsweg 1 zur Bildung von Isomaltol

(1)



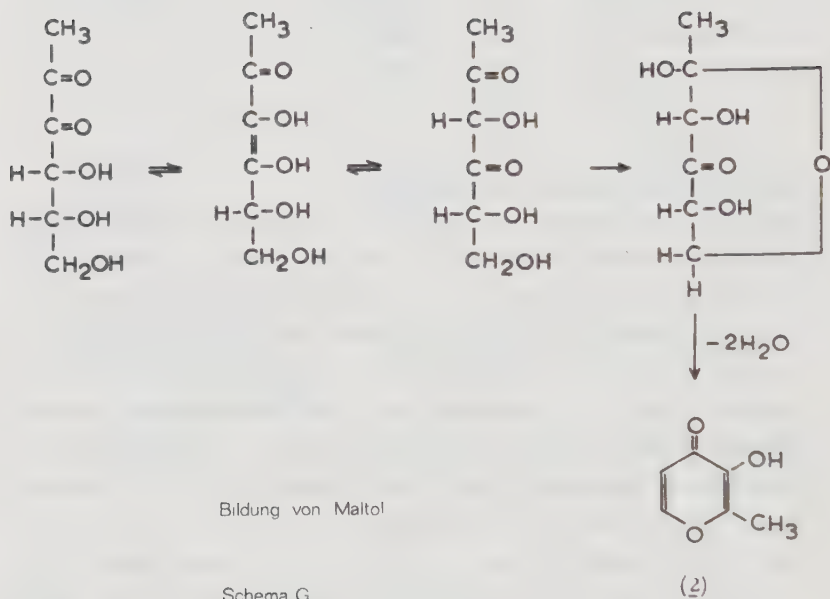
Reaktionsweg 2 zur Bildung von Isomaltol

(1)

des Backens von Milchgebäck aus Lactose und verleiht diesem zusammen mit Diacetyl, Maltol, Acrolein, Furanen, Furfuralen, Aldehyden und Ketonen den typischen Geruch und Geschmack (74, 75, 76, 77). Auch in Kaffee und Kakao konnte Isomaltol nachgewiesen werden.

Eigenschaften und Auftreten von Maltol

H. Beitter (78) fand in trockendestillierter, frischer Zichorie geringe Mengen Maltol neben Furaldehyd, 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd u. a. Verschiedene Autoren (79, 80, 81, 82) berichten über Maltol als Spurenendprodukt der nichtenzymatischen Zuckerbräunung vom Maillard-Typ. Ausserdem wurde Maltol in Lärchenrinde, in getrockneten Coniferennadeln und in den Destillaten oder in den Röstprodukten von Weichhölzern, Zellulose, Kakao, Kaffeebohnen, Sojabohnen, Getreiden und diastatischen Mehlteigen gefunden. Maltol lässt sich auch in überhitzter Milch, in Kondensmilch und Milchpulver, in Biermalz, in Malzkaffee und in Brotkruste nachweisen. In Modellversuchen konnte Maltol durch trockenes Erhitzen von Maltose und einigen Maltoseoligosacchariden dargestellt werden, jedoch nicht in isolierbaren Mengen aus Glucose, Rohrzucker oder reiner Stärke. Patten (83) konnte Maltose nach der Umsetzung von wässrigen Maltose- oder Lactoselösungen mit Glycin im Autoklaven in Mengen von ca. 0,2% isolieren; Hodge und Mitarbeitern (43) gelang es, Maltol in hoher Ausbeute bei der trockenen Umsetzung von Maltose mit Piperidinsalzen zu gewinnen. Da Maltol nicht bei analogen Reaktionen der Glucose oder Galactose in den Produkten identifiziert werden konnte, nimmt man an, dass es aus 4-O-substituierten Glucose-derivaten (Maltose, Lactose, Cellobiose, Maltoseoligosacchariden) in Bräunungsreaktionen entsteht. Einen Mechanismus zur Bildung von Maltol könnte man sich wie in Schema G skizziert, vorstellen.



Reines Maltol hat einen brennenden, karamelähnlichen Geschmack, der an gebräunten Zucker von Konfektwaren erinnert. In Konzentrationen von nur 5 bis 250 ppm, bei denen der Eigengeschmack keine Rolle mehr spielt, soll Maltol das Aroma und den süssen Geschmack vieler kohlenhydratreicher Lebensmittel wie von Keksen, Eiscremes, Gelatinennachspeisen, Fruchtsäften und Sirups nachhaltig verstärken. Auf Grund der Bedeutung des Maltols ist ein Verfahren zur quantitativen Bestimmung eingeführt, das auf der Farbreaktion von Maltol mit FeCl_3 beruht. Mittlerweile weiss man aber, dass eine grosse Anzahl anderer Verbindungen wie z.B. 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on und 4-Hydroxy-5-methyl-2,3-dihydrofuran-3-on mit FeCl_3 ebenfalls Farbreaktionen gibt.

Daher ist anzunehmen, dass mit der bisher üblichen FeCl_3 -Methode keine zuverlässigen Bestimmungen von Maltol in den verschiedenen Nahrungsmitteln möglich ist.

Durch ein geeignetes gaschromatographisches Verfahren sollte Maltol auf einfachere Weise und genauer erfasst werden können.

Entwicklung eines Analysenverfahrens zur Trennung von Zucker- abbauprodukten

Die vorangegangene Darstellung lässt erkennen, welche Bedeutung 2-Hydroxyacetylfuran, 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd und 3,5-Dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on sowie Maltol und Isomaltol beim Ablauf von Zuckerbräunungsreaktionen haben und welches Interesse vorliegt, diese Substanzen auf einfache Weise qualitativ und quantitativ in Lebensmitteln identifizieren zu können. W. Seilmeier (60) berichtet über Schwierigkeiten, die bei der gaschromatographischen Trennung dieser Verbindungen auftreten. Die Trennung Maltol/Isomaltol gelang ihm nach Methylierung und bei Verwendung von Neopentylglykolsuccinat als stationäre Phase. Die analytischen Arbeiten von W. Seilmeier bezogen sich aber überwiegend auf den qualitativen Nachweis der von Th. Severin und W. Seilmeier erstmals isolierten Verbindungen 4-Hydroxy-5-methyl-2,3-dihydrofuran-3-on und 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on.

Weitere wichtige Zuckerumwandlungsprodukte können mit dem von W. Seilmeier beschriebenen Verfahren nicht aufgetrennt werden.

Zunächst versuchte ich ein gaschromatographisches Analysenverfahren zu finden, das eine direkte Trennung der beschriebenen Zuckerumwandlungsprodukte ohne vorherige Derivatisierung ermöglicht. Mit einem leistungsfähigen Gaschromatographen mit Flammenionisationsdetektor, der eine grosse Nachweisempfindlichkeit besass, wurden umfangreiche Reihenversuche zur Trennung der Reinsubstanzen auf verschiedenen Säulenmaterialien durchgeführt. Zunächst testete ich als flüssige Phasen das polare Carbowax 20M sowie das weniger polare SE30^{†)}, einen Methylsilikongummi, in verschieden langen Stahlsäulen. Da diese Versuche

^{†)} Lieferant: Fa. Varian

nicht erfolgreich waren, führte ich weitere Trennversuche mit der flüssigen Phase Phenylsilikongummi SE 52 ⁺⁾ durch. Gerade der Phenylsilikongummi erlaubt im allgemeinen gute Trennungen sowohl von polaren wie von unpolaren Substanzen; tatsächlich konnte ich auch in einzelnen Fällen scharfe Peaks für Reinsubstanzen erhalten, jedoch in keinem Fall reproduzierbare Ergebnisse bei Versuchen, Gemische verschiedener Substanzen aufzutrennen. Besonders auffällig wurde die Unbrauchbarkeit der getesteten stationären Phasen bei Versuchen, die Reinsubstanzen bei sehr unterschiedlichen Mengenverhältnissen aufzutrennen und möglichst noch quantitativ zu bestimmen. Die Lösung dieser Aufgabenstellung ist aber eine Voraussetzung für die Analyse von unbekannten Reaktionsgemischen oder Lebensmitteln. Als weitere stationäre Phasen wurden QF 1 (Fluoralkylsilikon), Ethofat (Polyoxyäthylenmonostearat) und Poropak Q ohne bessere Ergebnisse getestet.

Auch die Verwendung von besonders temperaturstabilen stationären Phasen wie Apiezon L (polymerer Kohlenwasserstoff mit Mol. -Gew. 15000) und FFAP führte trotz hoher Ofentemperaturen zu keinem brauchbaren Trennverfahren für 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd, 3,5-Dihydroxy-2-methyl-4H-pyran-4-on, 2-Hydroxyacetylfuran, Isomaltol und 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-2-methyl-4H-pyran-4-on.

Auf Grund dieser Erfahrungen konnte der Weg zu einer gaschromatographischen Trennung nur über die Derivatisierung der OH-Gruppen der Zuckerumwandlungsprodukte führen, um sie auf diese Weise leichter flüchtig zu machen und unter Vermeidung hoher Temperaturen sowohl im Injektor des Gaschromatographen wie auch in der Trennsäule, frühzeitige thermische Zersetzungen zu vermeiden.

Ein Analysenverfahren, das die Trennung derivatisierter Zuckerumwandlungsprodukte ermöglicht, muss sich durch besonders einfache Handhabung und jederzeit reproduzierbare Ergebnisse auszeichnen.

⁺⁾ Lieferant: Fa. Varian

Meine Arbeiten waren zunächst auf die Modifizierung eines schnell durchzuführenden Silylierungsverfahrens ausgerichtet. Es wurden für diese Versuche die Reinsubstanzen mit dem Silylierungsreagenz "Tri-Sil-Z"⁺⁾ behandelt. "Tri-Sil-Z" enthält N-Trimethylsilylimidazol als hochwirksames Silylierungsmittel für hydroxyl- und polyhydroxylhaltige Substanzen, die sowohl in trockener wie auch in wasserhaltiger Lösung vorliegen können. Tatsächlich können mit "Tri-Sil-Z" auf einfache Weise die Trimethylsilyläther als beständige, relativ gut-flüchtige Derivate der Zuckerumwandlungsprodukte dargestellt werden. Die gaschromatographische Trennung des mit "Tri-Sil-Z" silylierten Reaktionsgemisches der Zuckerumwandlungsprodukte wird jedoch durch einen starken Eigenpeak des Silylierungsreagenzes gestört, der wichtige Peaks von Zuckerumwandlungsprodukten verdeckt. Wegen dieser Störungen musste die weitere Verwendung des einfach und schnell zu handhabenden Silylierungsreagenzes "Tri-Sil-Z" aufgegeben werden. Ein von M. Makita und W.W. Wells (84) erarbeitetes Verfahren zur quantitativen Silylierung, das von verschiedenen Forschergruppen (85, 86) bereits 1956 für die Untersuchung von Zuckern beschrieben und von R. Bentley und Mitarbeitern (87) sowie von C.C. Sweeley (88) weiterentwickelt wurde, schien für meine Arbeiten interessanter zu sein. Das von C.C. Sweeley ausführlich beschriebene Silylierungsverfahren wurde von mir modifiziert und für die später durchzuführenden Reihenversuche wie folgt standardisiert; die eingewogene Menge einer Einzelsubstanz bzw. eines Substanzgemisches wird zur Silylierung zunächst in der 8 bis 10-fachen Menge Pyridin gelöst; das Pyridin wird vorher über aktiviertem Aluminiumoxid sorgfältig getrocknet. Anschliessend wird im Mol.-Verhältnis 4 : 1 1.1.1.3.3.3.-Hexamethyldisilazan und Trimethyl-chlorsilan zum gelösten Untersuchungsmaterial gegeben. Nach halbmütigem intensivem Schütteln und zehnminütiger Wartezeit, während der sich ein Niederschlag von Ammoniumchlorid bildet, steht die klare Lösung der silylierten Zuckerumwandlungsprodukte zur gaschromatographischen Untersuchung zur Verfügung.

⁺⁾ Lieferant: Fa. Varian

Wie Versuche zeigten, ist diese Mischung etwa 12 Stunden praktisch beständig; erst nach dieser Zeit treten Abbau- und Umwandlungsprozesse störend in Erscheinung, die im Gaschromatogramm durch Verkleinerung der Peaks und einen "Tailing"-Effekt zu erkennen sind. Bei der Auswahl einer geeigneten stationären Phase zur Trennung des silylierten Untersuchungsmaterials habe ich zunächst Phenylsilikongummi SE 30 vorgezogen; jedoch konnte durch Veränderung der gaschromatographischen Analysenbedingungen keine zufriedenstellende Trennung der strukturisomeren Verbindungen Maltol, Isomaltol, 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd und 2-Hydroxyacetylfuran erreicht werden. Bessere Trennungen von 2-Hydroxyacetylfuran, Maltol, Isomaltol, 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on und 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd konnten auf den stationären Phasen Fluoralkylsilikon QF1 und Phenylsilikongummi SE 52 bei Einhaltung genau definierter Analysenbedingungen erreicht werden. Wie sich beim längeren Arbeiten mit der stationären Phase Fluoralkylsilikon QF1 herausstellte, muss diese regelmässig nach den Aufheizperioden bis ca. 260°C mit dem Silylierungsgemisch rekonditioniert werden, um anschliessend wieder einsatzbereit zu sein. Abbildung 1 zeigt das Gaschromatogramm einer Trennung auf einer QF1-Säule. Wegen der einfacheren Handhabung und der besseren Auflösung ist die Verwendung der SE-52-Säule für die durchzuführenden Reihenversuche sinnvoller. Die Trennung der fünf silylierten Zuckermwandlungsprodukte zeigt Abbildung 2.

Da hiermit ein Analysenverfahren zum qualitativen und quantitativen Nachweis von Maltol, Isomaltol, 2-Hydroxyacetylfuran, 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd und 2,3-Dihydro-3,4-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on reproduzierbar festgelegt war, konnte das Auftreten dieser Zuckermwandlungsprodukte in Modellreaktionen und in Lebensmitteln untersucht werden.

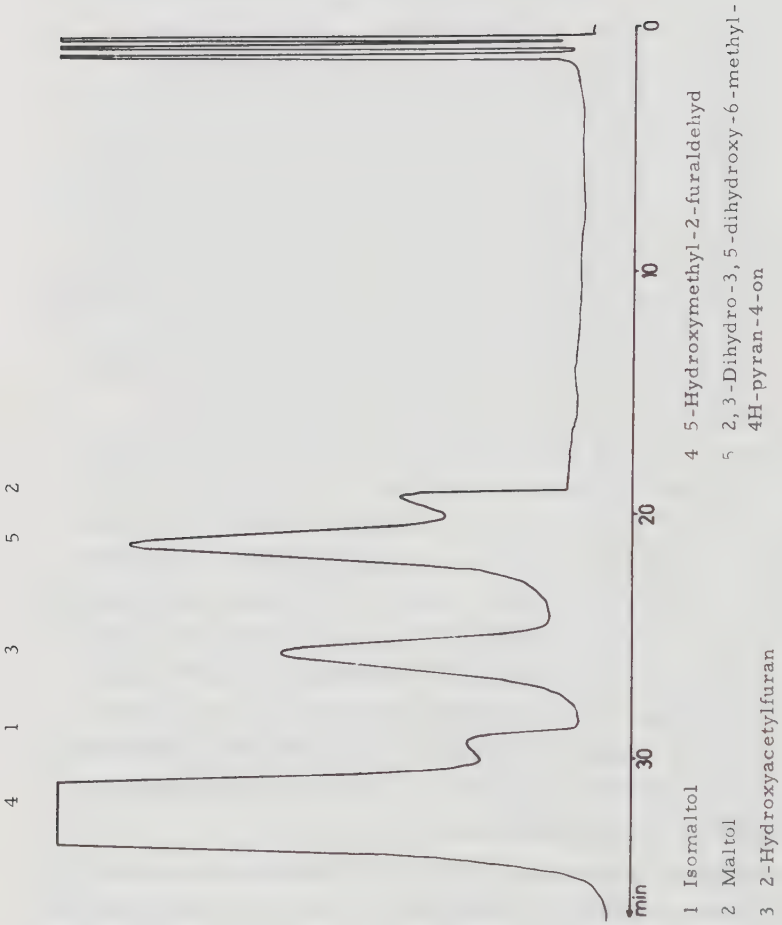


Abbildung 1

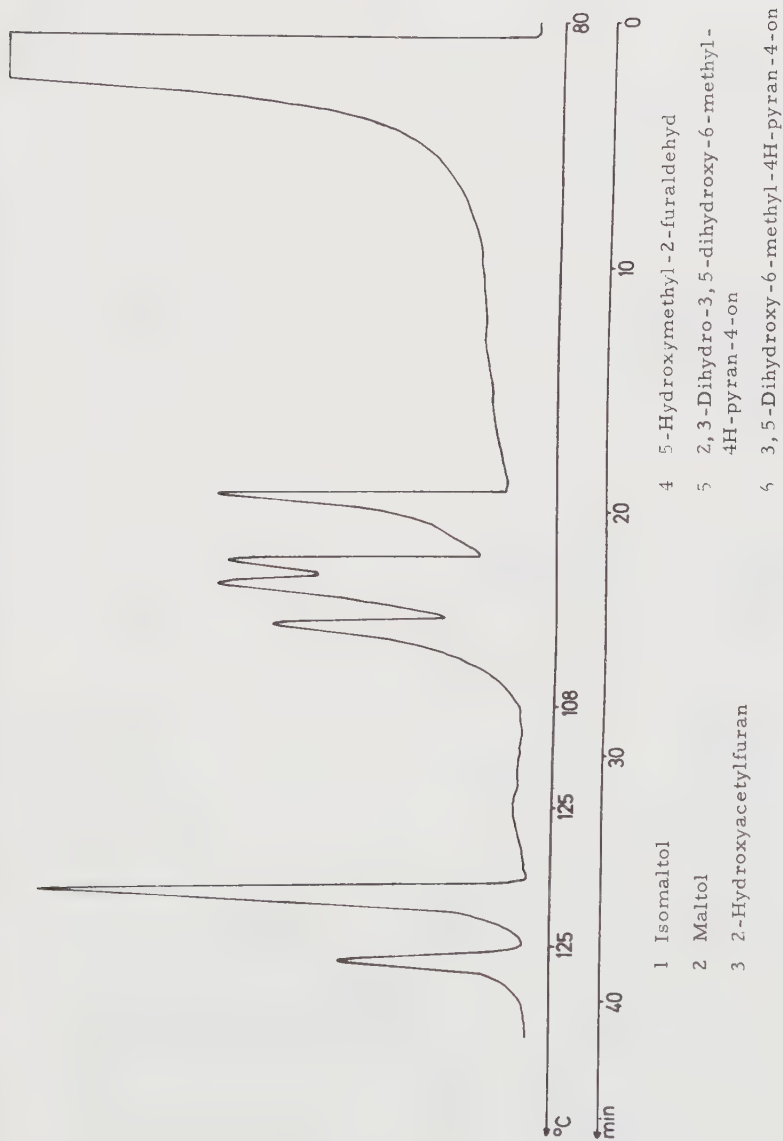


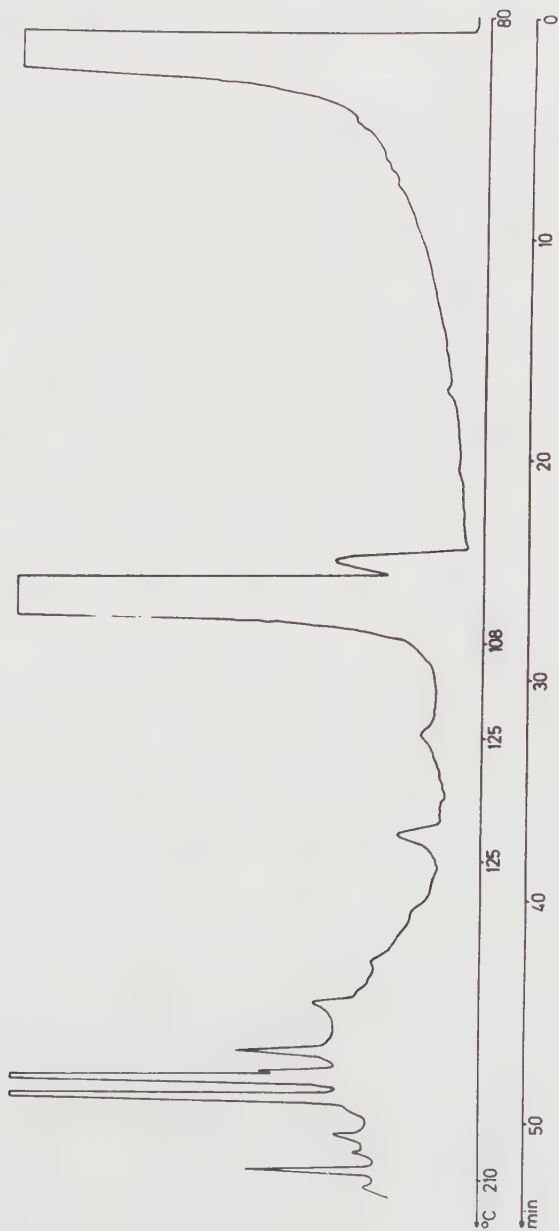
Abbildung 2

I. Karamellisierung von Zucker

In der ersten Versuchsreihe wurden Saccharose, Glucose, Fructose, Maltose und Lactose einzeln zur Karamellisierung in einer offenen Porzellanschale trocken erhitzt. Die entstandenen Schmelzkuchen löste ich in heissem Wasser und extrahierte die wässrigen Lösungen in einem Perforator jeweils ca. 3 Stunden mit Essigsäureäthylester. Der Essigsäureäthylesterextrakt wurde getrocknet und das Lösungsmittel abgezogen. Den zurückgebliebenen, braunen und meist öligen Rückstand verwendete ich nach Silylierung wie beschrieben zur gaschromatographischen Trennung auf einer SE-52-Säule.

Karamellisierung von Saccharose

Saccharose ergab beim Erhitzen auf 180°C eine klare, hellgelbe, dünnflüssige Schmelze; bei 185°C setzte eine heftige Gasentwicklung ein, wobei sich die Schmelze dunkelbraun verfärbte. Die Schmelze wurde noch weitere 20 Minuten auf einer Temperatur von ca. 180°C gehalten, in Wasser aufgelöst, extrahiert und zur gaschromatographischen Analyse wie unter I beschrieben vorbereitet. Das Gaschromatogramm für das Saccharosekaramelprodukt lässt ca. 0,001% 2-Hydroxyacetylfuran, ca. 0,21% 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd und ca. 0,0003% 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on (Prozentzahlen bezogen auf die ursprüngliche Zuckermenge) erkennen (siehe Abbildung 3). Die eindeutige Identifizierung der Substanzen bzw. Zuordnung der Peakflächen wurde bei dieser Analyse wie bei allen folgenden Untersuchungen in Zweifelsfällen durch Überspritzen der Substanzen, d.h. durch Zugabe einer definierten Menge Reinsubstanz der fraglichen Verbindung zum Untersuchungsmaterial, bzw. durch Vergleich der Retentionszeiten durchgeführt, wobei eine völlige Deckung des aufzuklärenden Peaks mit dem



3 2-Hydroxyacetyl-furan

4 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd

5 2, 3 -Dihydro-3, 5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on

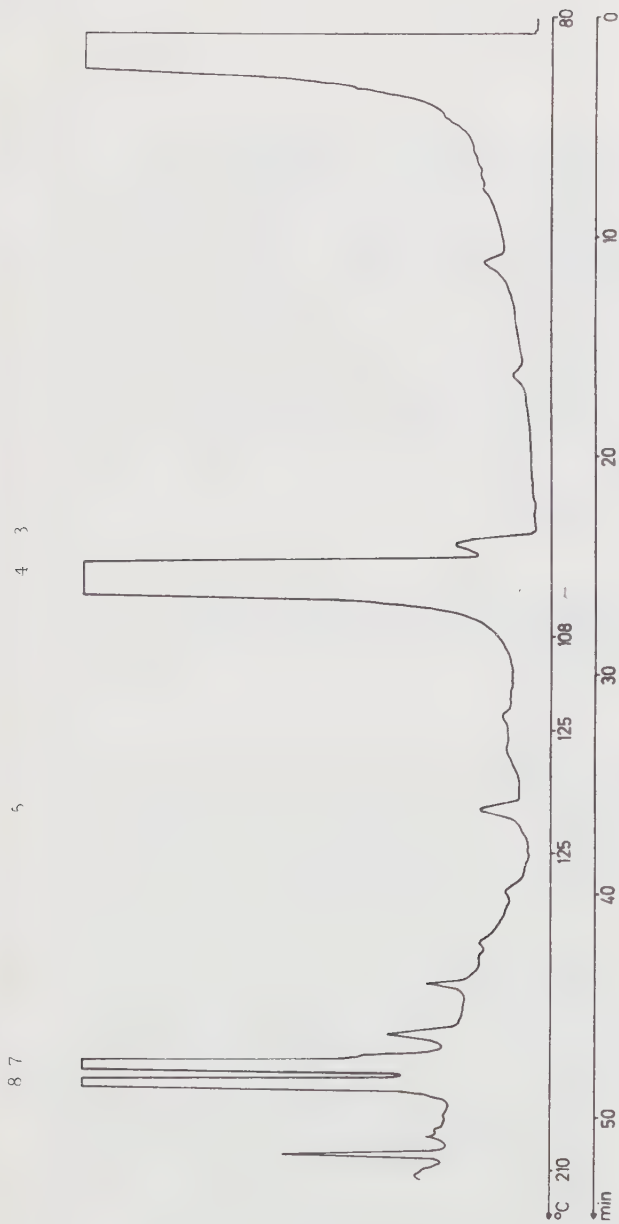
Abbildung 3

neu hinzugekommenen als Identitätsbeweis zu werten ist. Das Gaschromatogramm des Saccharosekaramelproduktes weist bei höheren Säulentemperaturen (182° bzw. 186°C) noch zwei grosse Peaks, bei noch höherer Säulentemperatur acht weitere kleine Peaks für nicht identifizierte Substanzen auf. In dem auf diese Art hergestellten Saccharosekaramel konnten Isomaltol und Maltol nicht nachgewiesen werden. Interessant ist jedoch das Auftreten von 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on im karamellisierten Zucker; diese Verbindung wird in der Literatur (47) bisher nur als Umsetzungsprodukt von reduzierenden Zuckern bei methylammoniumacetat- bzw. säurekatalysiertem Abbau beschrieben.

Karamellisierung von Glucose

In einem weiteren Versuch karamellierte ich Glucose. Bei 135°C liegt Glucose als klare, farblose Schmelze vor, bei 153°C setzt allmählich eine nur langsam stärker werdende Gasentwicklung ein. Die flüssige Schmelze wurde auf eine Temperatur von 180°C gebracht und 1/4 Stunde bei dieser Temperatur gehalten, dabei trat schwache Braunverfärbung und Viskositätserhöhung auf. Für die Karamellierungsreaktionen wählte ich 180° - 200°C als Endtemperatur, da bei vielen lebensmitteltechnologisch wichtigen Prozessen wie z.B. Braten, Backen und Rösten diese Temperaturen erreicht werden.

Die Aufarbeitung des aus Glucose entstandenen Schmelzkuchens wurde nach dem unter I beschriebenen Verfahren durchgeführt. Den Extraktionsrückstand von nur 500 mg untersuchte ich gaschromatographisch nach dem Standardverfahren. Das Gaschromatogramm (siehe Abbildung 4) ist dem des Saccharosekaramels recht ähnlich und lässt ca. 0,047% 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd, ca. 0,0006% 2-Hydroxyacetylfuran und ca. 0,0004% 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on (Prozentzahlen bezogen auf die ursprüngliche Zuckermenge) neben den



- 3 2-Hydroxyacetyl-furan
- 4 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd
- 5 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on

Abbildung 4

bereits bei der Saccharose beschriebenen, nicht identifizierten Substanzen erkennen. Maltol und Isomaltol konnten auch im Glucosekaramel nicht nachgewiesen werden. Unter den vielen von Heyns und Mitarbeiter (8) identifizierten Verbindungen wird Maltol und Isomaltol ebenfalls nicht genannt - aber auch nicht 2-Hydroxyacetylfuran oder 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on. Eine weitere Veröffentlichung über die thermische Zersetzung von Glucose bei 250°C und die dabei entstehenden leichtflüchtigen Produkte erschien von R.H. Walter und J.S. Fagerson (56) - auch hier fehlen Angaben über die Bildung der von mir nachgewiesenen Produkte.

Isolierung und Identifizierung von Di-furfural-2-methyläther

Ich versuchte, einige der unbekannten Substanzen aus dem Glucosekaramel, die im Gaschromatogramm (siehe Abbildung 4) auftraten, zu identifizieren.

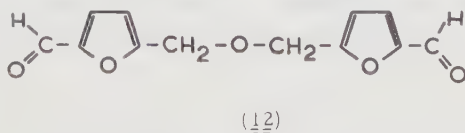
Dazu wurde ein Teil des Rückstandes der Essigsäureäthylesterextraktion zunächst einer Vakuumdestillation unterworfen. Nachdem 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd und 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on in die Destillationsbrücke bzw. in die Vorlage übergegangen waren, wurde die Temperatur in der Retorte auf 150°C gesteigert, wobei sich eine dickflüssige, ölige Substanz am Ende der Destillationsbrücke abschied. Im Gaschromatogramm dieses Öls erschienen ausschliesslich die Peaks Nr. 7 und Nr. 8 des Gaschromatogrammes (siehe Abbildung 4) des Glucosekaramels.

Die weitere Auftrennung des hellgelben Öls erfolgte dünnschichtchromatographisch auf einer Kieselgelplatte mit Fluoreszenzindikator, als Laufmittel diente Benzol-Äthanol-Essigsäureäthylester im Mischungsverhältnis 4:2:1. Im Dünnschichtchromatogramm waren durch Fluoreszenzlöschung fünf deutlich getrennte Substanzen mit

den rf-Werten: Substanz A = 0,14, Substanz B = 0,34, Substanz C = 0,62, Substanz D = 0,78, Substanz E = 0,85 zu erkennen. Die Kieselgelschicht wurde an den markierten Stellen abgekratzt und mit Essigsäureäthylester eluiert. Der Versuch, die Einzelsubstanzen zu silylieren und gaschromatographisch nachzuweisen, war nicht erfolgreich. Da ich beabsichtigte, die Substanzen zu identifizieren, die im Gaschromatogramm des Glucosekaramels als Peak Nr. 7 und Nr. 8 erschienen waren, eluierte ich auch die Kieselgelschichten, die keine Fluoreszenzlösung aufwiesen. Tatsächlich konnte ich auf diese Weise aus der Zone, die zwischen den Substanzen B und C lag, eine beträchtliche Menge eines farblosen Öls isolieren, das im Gaschromatogramm Peaks mit denselben Retentionszeiten zeigte, wie diese im Gaschromatogramm des Glucosekaramels als Peak Nr. 7 und Nr. 8 auftraten. Dünnschichtchromatographisch war also keine Trennung dieser beiden Substanzen zu erreichen.

Die hellgelbe, kristalline Substanz D weist einen Schmelzpunkt von 107°C - 108°C auf. Im IR-Spektrum treten folgende scharfen Banden auf: bei 1670 cm^{-1} für $\text{C}=\text{O}$ -Bindung, bei 2920 cm^{-1} für C-H -Valenzschwingungen, bei 1050 cm^{-1} für eine $-\text{C}-\text{O}-\text{C}-$ Ätherbindung. Das NMR-Spektrum von (12) mit TMS als innerem Standard zeigt ein Singulett bei $\tau = 7,76$ und ein Singulett bei $\tau = 0,75$, sowie zwei Dubletts ($J = 3\text{ Hz}$) bei $\tau = 3,42$ und bei $\tau = 2,69$.

Ein sehr ähnliches NMR-Spektrum findet man für 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd mit Ausnahme des Signals für das Proton der OH-Gruppe, die offensichtlich in der zu identifizierenden Verbindung (12) fehlt. Durch das Massenspektrum konnte ein Molekulargewicht von 234 für die unbekannte Substanz ermittelt werden. Die Interpretation der Spektren lässt auf Di-Furfural-2-methyläther (12) schliessen:

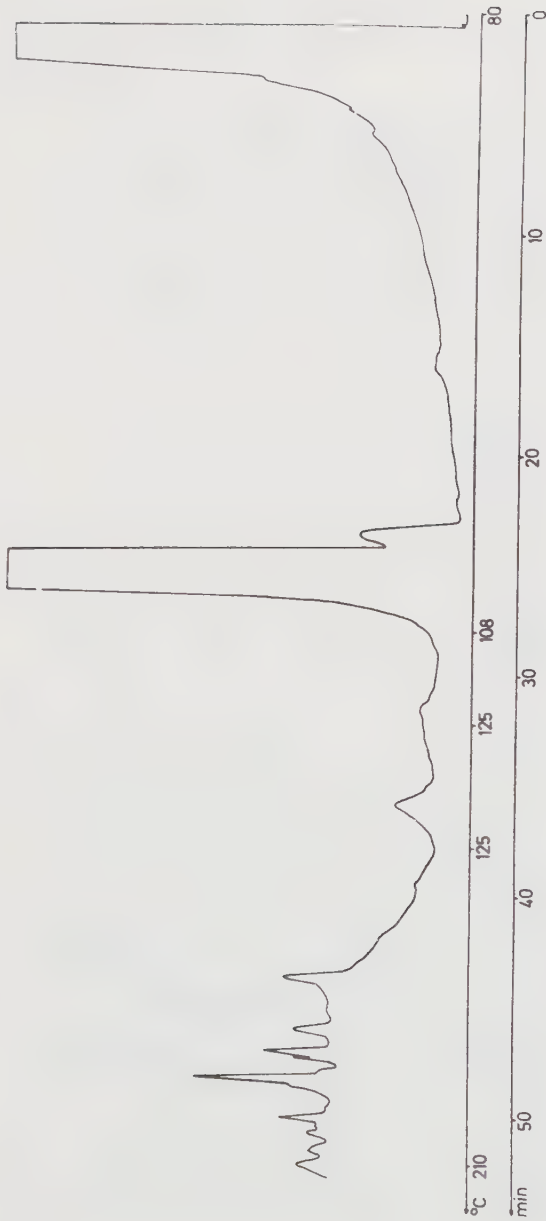


Di-Furfural-2-methyläther (12) lässt sich auf Grund der geringen Flüchtigkeit unter den von mir angewandten Bedingungen gaschromatographisch nicht nachweisen.

K. Aso (89) hat Di-Furfural-2-methyläther beim thermischen Abbau von Stärke, Rohrzucker, Glucose und Fructose im Autoklaven bei 65°C in den Zersetzungsprodukten nachgewiesen; ausserdem haben K. Aso und H. Sugisawa (90) beim säurekatalysierten Abbau von Saccharose Di-Furfural-2-methyläther neben 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd und 2-Hydroxyacetylfuran gefunden - jedoch nur bei der Verwendung von Oxalsäure als Katalysator, bei Verwendung von Salzsäure entstand ausschliesslich Lävulinsäure. Ein weiterer Literaturhinweis, der sich auf ein Entstehen von Di-Furfural-2-methyläther beim Erhitzen von 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd bezieht, wurde von T. Iscki (91) veröffentlicht.

Karamellisierung von Fructose

Fructose karamellierte ich bei 170°C und untersuchte das Karamelprodukt wie unter I beschrieben. Die thermische Behandlung von 250 g Fructose ergab mit 1200 mg eine relativ grosse Extraktausbeute. Die gaschromatographische Trennung des silylierten Karamelproduktes (siehe Abbildung 5) lässt folgende Verbindungen in grösserer Menge erkennen: ca. 0,4% 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd, ca. 0,03% 2-Hydroxyacetylfuran und ca. 0,005% 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on (Prozentzahlen bezogen auf die ursprüngliche Zuckermenge). Ausserdem zeigt das Gaschromatogramm (siehe Abbildung 5) noch eine der beiden Substanzen an, die in besonders auffälliger Menge in den Karamelprodukten von Saccharose und Glucose aufgetreten sind.



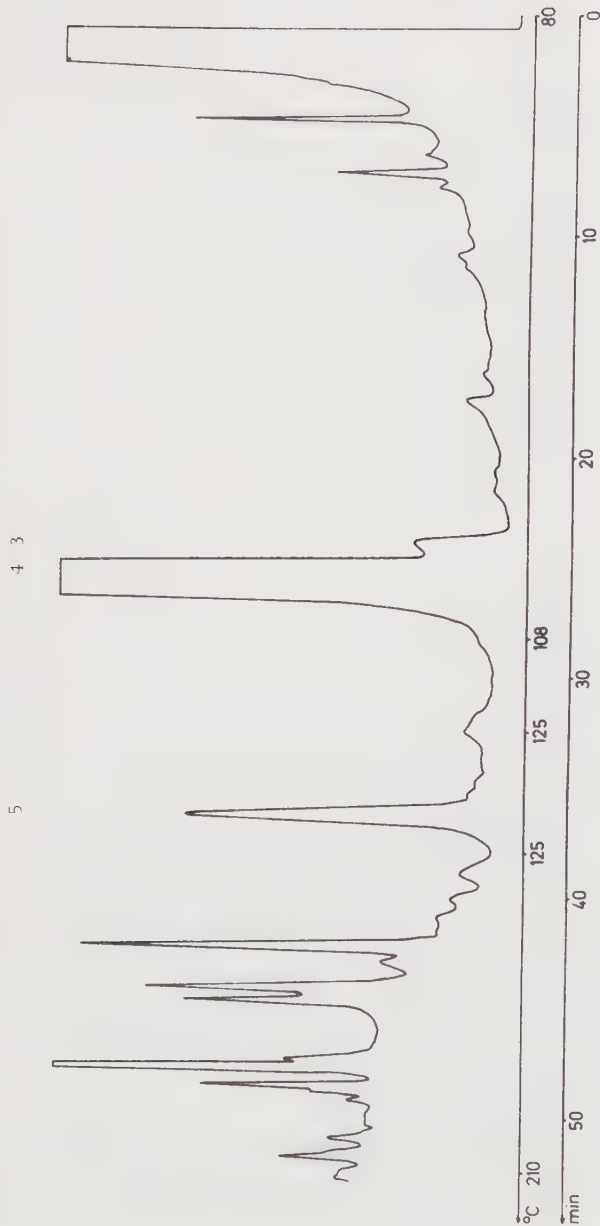
- 3 2-Hydroxyacetylfuran
- 4 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd
- 5 2, 3-Dihydro-3, 5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on

Abbildung 5

Das Gaschromatogramm lässt auch noch 10 weitere, nicht identifizierte Verbindungen erkennen, die offensichtlich in sehr geringen Mengen vorliegen und erst bei höheren Säulentemperaturen auf der stationären Phase mit genügender Geschwindigkeit wandern. Maltol und Isomaltol konnten wiederum nicht nachgewiesen werden.

Karamellisierung von Maltose

Anders sieht das Untersuchungsergebnis aus, das ich bei der standardisierten gaschromatographischen Trennung des Maltosekaramels erhielt. Der Karamellisierungsprozess verläuft bei Maltose auffällig anders als bei Saccharose, Glucose und Fructose: zwischen 110° und 115°C bildet Maltose eine sehr zähe, trübe Schmelze, die sich bei 135°C braun zu verfärben beginnt, um dann bei 155°C bis max. 160°C recht schnell tief dunkelbraun und sehr zähflüssig zu werden. Durch Aufarbeitung des Maltosekaramels wurden 2500 mg eines dunkelbraunen zähen Öls als Rückstand des Essigsäure-äthylesterextraktes gewonnen. Das Gaschromatogramm des silylierten Extraktionsrückstandes zeigt qualitativ und quantitativ deutliche Abweichungen gegenüber anderen Zuckerkaramelprodukten: bei der Karamellisierung von Maltose im Temperaturbereich bis 160°C wird eine überdurchschnittlich grosse Menge von ca. 0,032% 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on gebildet (siehe Abbildung 6), daneben entstehen unter diesen Versuchsbedingungen ca. 0,3% 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd und ca. 0,01% 2-Hydroxyacetylfuran (Prozentzahlen bezogen auf die ursprüngliche Zuckermenge). Weiterhin konnte Lävulinsäure sowie Angelicalacton (Peaks am Anfang des GC's der Abbildung 6) durch Vergleich der Retentionszeiten identifiziert werden. Auffällige Unterschiede ergeben sich beim Vergleich



- 3 2-Hydroxyacetyl-furan
- 4 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd
- 5 2, 3-Dihydro-3, 5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on

Abbildung 6

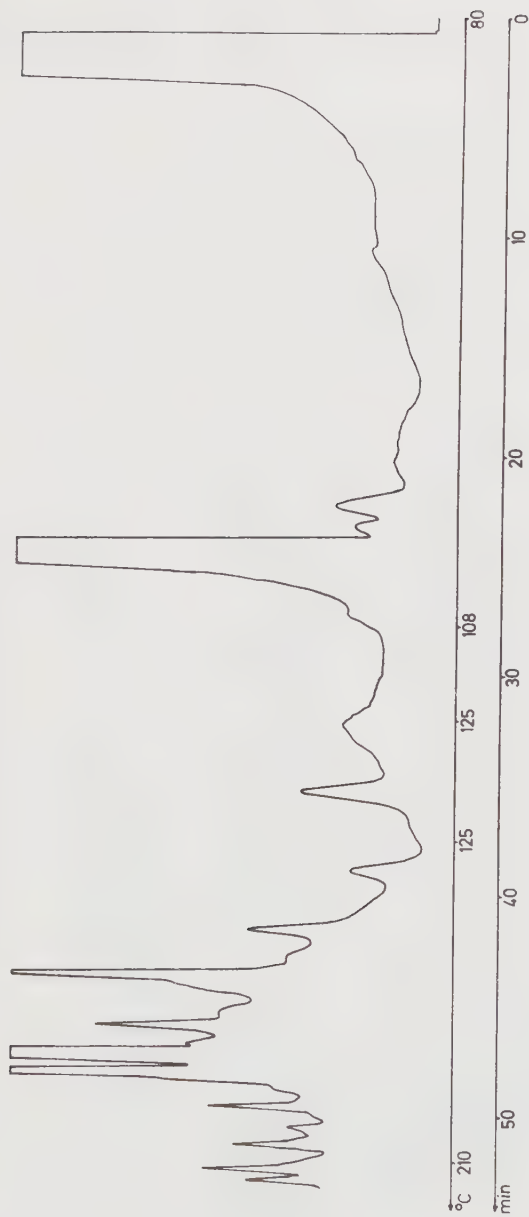
mit dem Gaschromatogramm (Abbildung 7) der schwerflüchtigen Produkte eines bis ca. 205°C erhitzten Maltosekaramels: in diesem Fall konnte Maltol nachgewiesen werden (45), während der Anteil an 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on (ca. 0,004%), an 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd (ca. 0,07%) und an 2-Hydroxyacetylfuran (ca. 0,003%) deutlich zurückgegangen ist (Prozentzahlen bezogen auf die ursprüngliche Zuckermenge); sowohl Lävulinsäure wie auch Angelicalacton liegen hier nicht in nachweisbaren Mengen vor. Veränderungen traten bei diesem Experiment auch bei den schwerflüchtigen, nicht identifizierten Verbindungen ein.

Karamellisierung von Lactose

Lactose bildet beim trockenen Erhitzen zunächst eine bräunlich-graue, krümelige Masse, die bei der Endtemperatur von 180°C in einen dunkelbraunen, zähflüssigen Brei übergeht. Aus 250 g Lactose wurden 600 mg eines rotbraunen, zähen Öls als Abdampfrückstand des Essigsäureäthylesterextraktes erhalten. Auch im Karamelprodukt (siehe Abbildung 8) der Lactose kommt 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on (ca. 0,004%) in grösserer Menge vor als z.B. 2-Hydroxyacetylfuran (ca. 0,003%); 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd übertrifft mengemässig (ca. 0,06%) alle anderen, hier beschriebenen Verbindungen. Es treten einige schwerflüchtige, nicht identifizierte Verbindungen auf. Sowohl Isomaltol wie auch Maltol konnte unter diesen Reaktionsbedingungen im Lactosekaramel nicht nachgewiesen werden.

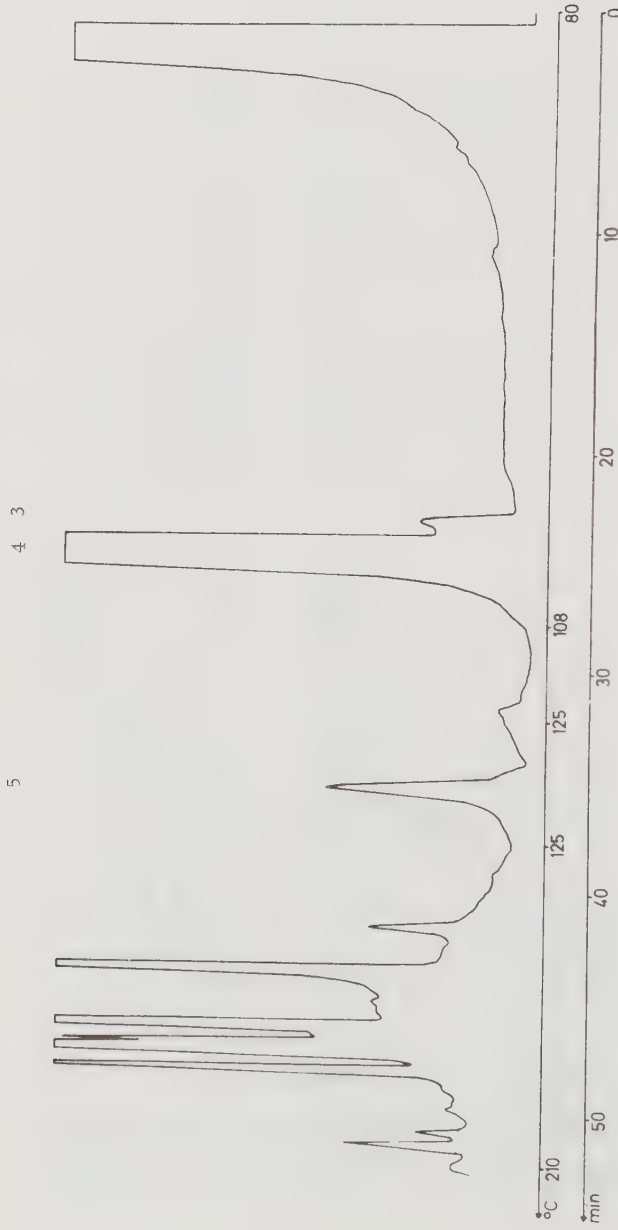
Die Ergebnisse der quantitativen Bestimmungen von Inhaltsstoffen der Zuckerkaramelprodukte fasst die folgende Übersichtstabelle A zusammen.

5 4 3 2



- 2 Maltol
- 3 2-Hydroxyacetyl-furan
- 4 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd
- 5 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on

Abbildung 7



3 2-Hydroxyacetylfuran

4 5-Hydroxymethyl - 2-furaldehyd

5 2, 3-Dihydro - 3, 5-dihydroxy - 6-methyl - 4H-pyran - 4-on

Abbildung 8

Karamel - produkt aus	Verbindung im Extraktionsrückstand (mg)					
250 g	(g) Extraktionsrückstand	2 Hydroxymethyl - 5 - furaldehyd	2 Hydroxyacetyl-furan	2,3 - Dihydro - 3,5 - Dihydroxy - 6 - methyl - 4H - pyran - 4 - on	Maltol	3,5 - Dihydroxy - 6 - methyl - 4H - pyran - 4 - on
Saccharose	2	530	35	7	0	0
Glucose	05	117	46	11	0	0
Fructose	3,2	1017	57	12	0	0
Maltose bis 160°C	2,5	741	34	80	0	0
Maltose bis 205°C	14	170	6,2	11,5	8,7	5,3
Lactose	0,6	140	6,6	10,6	0	0

Übersichtstabelle A

II. Umsetzung von Zuckern mit Methylammoniumacetat

Umsetzung von Glucose mit Methylammoniumacetat im Mol. -

Verhältnis 1,6 : 1

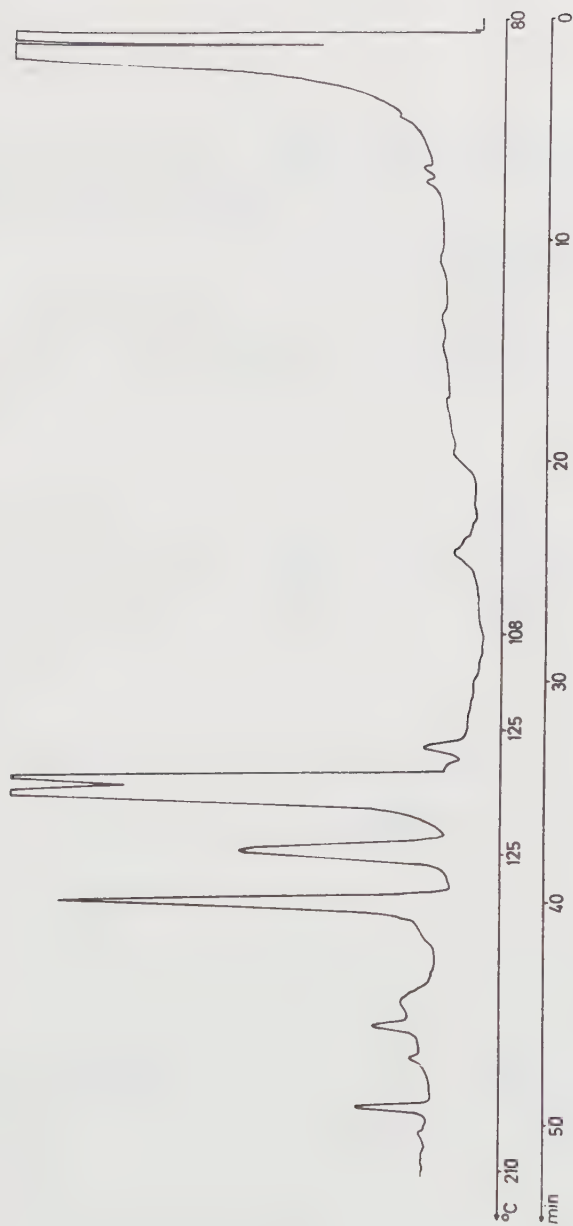
Glucose wurde mit einer wässrigen Lösung von Methylammoniumacetat im Mol.-Verhältnis 1,6 : 1 umgesetzt. Das Gemisch erhitzte ich in einer Porzellanschale auf offener Flamme, wobei auffallend ist, dass schon bei Temperaturen ab 100°C eine starke Bräunung des Reaktionsgemisches einsetzt. Weiteres Erhitzen führt zu tief schwarzbrauner Verfärbung und zu fortlaufender Viskositätssteigerung; bei 153°C liegt eine zähe, schwarzbraune Masse vor, die ich wegen starker Verkohlung nicht mehr weiter erhitzte. Die Aufarbeitung des Reaktionsgemisches erfolgte nach dem standardisierten Verfahren (siehe I); nach Abdampfen des Extraktionsmittels wurden 11,4 g eines zähen, braunen Öls gewonnen, das ich nach Silylierung gaschromatographisch untersuchte. Das Gaschromatogramm (siehe Abbildung 9) lässt vier Substanzen in relativ grossen Mengen erkennen, eine davon ist 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on, das in einer Menge von ca. 0,5% vorliegt. Drei andere Substanzen wurden zunächst nicht identifiziert. Neben diesen vier Hauptbestandteilen treten acht weitere Verbindungen in geringen Mengen auf - unter ihnen 5-Hydroxy-methyl-2-furaldehyd mit ca. 0,05% (Prozentzahlen bezogen auf die ursprüngliche Zuckermenge).

Versuch zur Isolierung und Identifizierung der im Gaschromatogramm (Abb. 9) aufgezeigten unbekannten Verbindung (6)

Zu diesem Zweck wurde das braune Öl der Essigesterextraktion bei 0,1 Torr und 93°C bis 128°C destilliert. Bei der Destillation schieden sich in der Brücke der Apparatur farblose Kristalle ab, während sich in der ersten Vorlage ein hellgelbes Öl ansammelte.

4

5



4 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd

5 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on

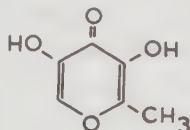
6 3,5-Dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on

Abbildung 9

Die gaschromatographische Untersuchung zeigte, dass es sich bei den farblosen Kristallen um die unbekannte Substanz (6) des Gaschromatogrammes (siehe Abbildung 9) der Umsetzungsprodukte von Glucose mit Methylammoniumacetat handelt.

Das IR-Spektrum von Substanz (6) zeigt eine weitgezogene OH-Bande bei ca. 3100 cm^{-1} . Bei 1650 cm^{-1} tritt eine scharfe Bande auf, die einer $>\text{C}=\text{O}$ -Bindung zuzuordnen ist.

Im NMR-Spektrum von Substanz (6) mit TMS als innerem Standard ist ein Singulett bei $\tau = 7,63$ einer Methylgruppe zuzuordnen; ein weiteres Singulett bei $\tau = 2,05$ weist auf ein olefinisches Proton im Molekül hin. Der Molekül-Peak im Massenspektrum von Substanz (6) liegt bei m/e 142. Die Interpretation der spektroskopischen Untersuchungsergebnisse lässt auf 3,5-Dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on (6) schließen:



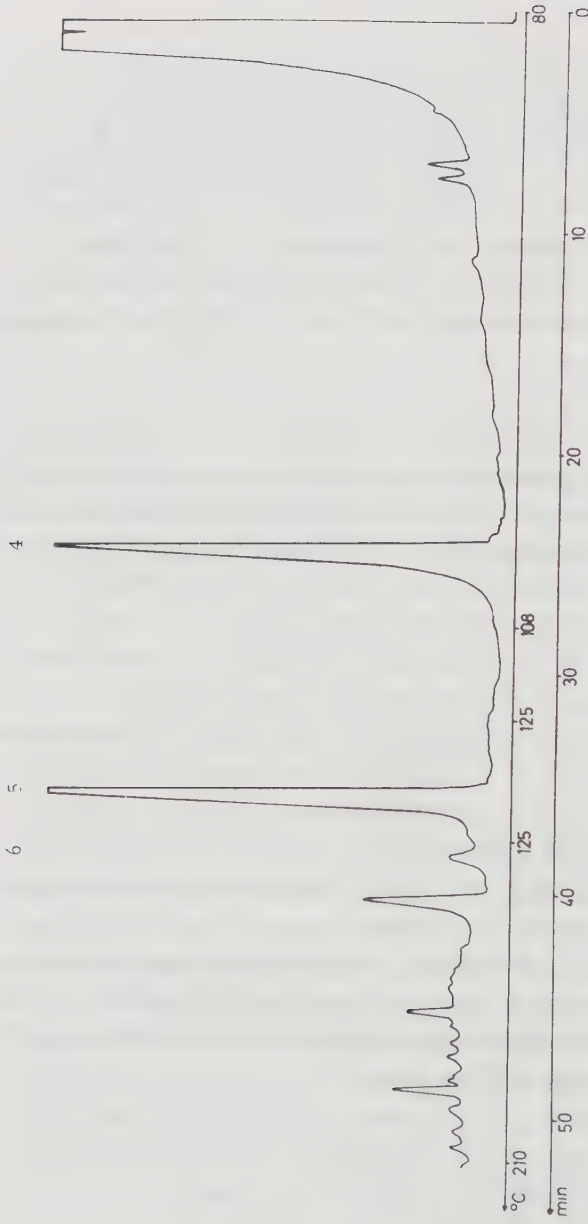
(6)

Diese Verbindung wurde erstmals von O. Terada und Mitarbeitern (93) beschrieben; G.R. Jurch (59) und Mitarbeiter fanden 3,5-Dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on (6) allerdings nur in sehr geringen Mengen bei der Umsetzung einer wässrigen Lösung von Glucose mit Methylammoniumacetat. Weitere Hinweise auf diese Substanz gibt die vorliegende Literatur nicht, obwohl es sich offensichtlich um eine Substanz handelt, die bei Zuckerabbaureaktionen in beachtlichen Mengen auftreten kann. G.R. Jurch und Mitarbeiter geben für die Substanz einen Schmelzpunkt von 156°C - 155°C an, während die von mir isolierten und mehrfach aus Essigsäure-

äthylester umkristallisierten Kristalle bei 108°C sublimieren und bei 177°C unter Zersetzung schmelzen. O. Terada und Mitarbeiter stellten einen Schmelzpunkt von 184°C für diese Substanz fest. G.R. Jurch vermutet wegen der unterschiedlichen Schmelzpunkte eine Polymorphie dieser Substanz. Bei der von mir durchgeführten Umsetzung von Glucose mit Methylammoniumacetat im Mol.-Verhältnis 1,6 : 1 konnten ca. 310 mg 3,5-Dihydroxy-5-methyl-4H-pyran-4-on isoliert werden, entsprechend einem mengenmässigen Anteil von ca. 0,8% dieser Verbindung im Extraktionsrückstand.

Umsetzung von Glucose mit Methylammoniumacetat im Mol.-Verhältnis 6 : 1

Der zuletzt beschriebene Versuch hat gezeigt, dass die Bildung der nicht stickstoffhaltigen Pyranderivate durch Methylamin katalysiert wird; aus diesem Grund sollte in einem weiteren Versuch der Einfluss einer geringen Menge Alkylamin festgestellt werden. Auch bei dem Mol.-Verhältnis 6 : 1 entstand ein schwarzer, teerartiger Brei als Reaktionsprodukt, die Erhitzung wurde bei einer Endtemperatur von 185°C abgebrochen. Das Gaschromatogramm (siehe Abbildung 10) des Extraktionsrückstandes (9,7 g) wies die erwarteten Veränderungen auf. Am auffälligsten ist der hohe Anteil an 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd (ca. 0,5%) im Reaktionsgemisch; dagegen ging die Ausbeute an 3,5-Dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on deutlich zurück - in ebenso geringer Menge zeigt das Gaschromatogramm noch fünf weitere, von mir jedoch nicht identifizierte Verbindungen. 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on konnte auch hier in verhältnismässig grosser Menge nachgewiesen werden. Auffällig ist wieder das Fehlen von Maltol, Isomaltol und 2-Hydroxyacetylfuran unter den Reaktionsprodukten.



- 4 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd
- 5 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on
- 6 3,5-Dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on

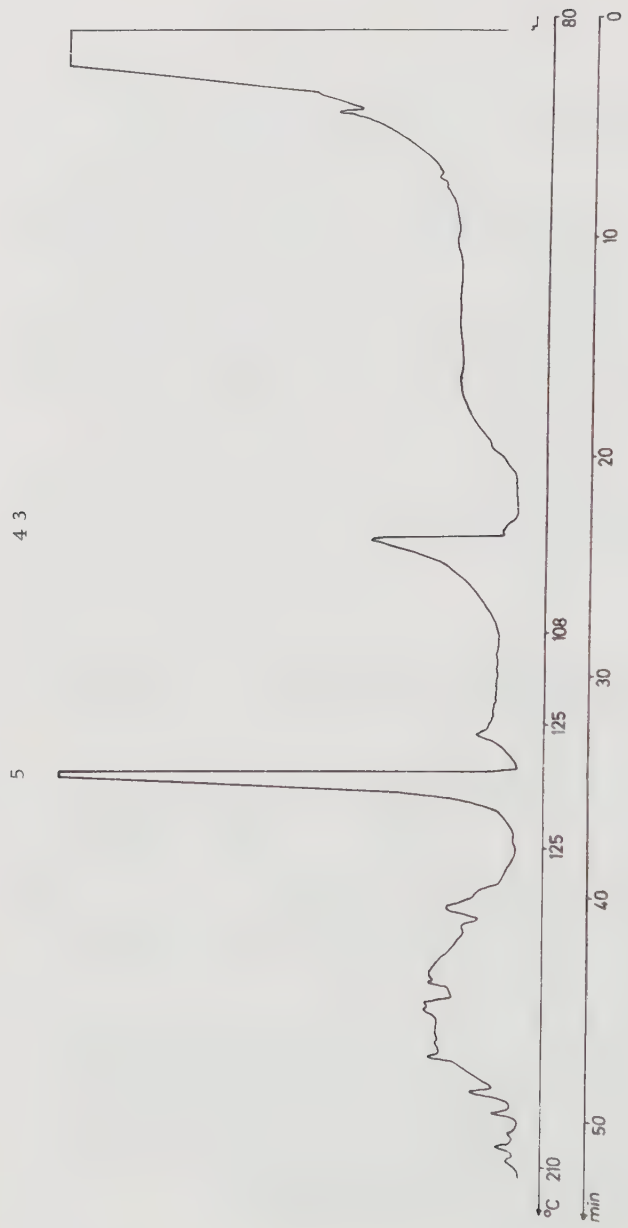
Abbildung 10

Umsetzung von Saccharose mit Methylammoniumacetat im Mol.-Verhältnis 3 : 1

Andere Ergebnisse waren zu erwarten bei der Umsetzung des nicht-reduzierenden Disaccharides Saccharose mit Methylammoniumacetat, weil hier zunächst keine durch das Alkylamin angreifbare Halbacetalform vorliegt. Ein wesentlicher Unterschied lag in der bedeutend geringeren Ausbeute an Extraktionsrückstand (4,5 mg). Durch die gaschromatographischen Untersuchungen (siehe Abbildung 11) konnte wieder eine vergleichsweise grosse Menge (ca. 0,2%) an 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on neben 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd (ca. 0,1%) und einer ziemlich geringen Menge (ca. 0,002%) 2-Hydroxyacetylfuran nachgewiesen werden (Prozentzahlen bezogen auf die ursprüngliche Zuckermenge).

Umsetzung von Maltose mit Methylammoniumacetat im Mol.-Verhältnis 3 : 1

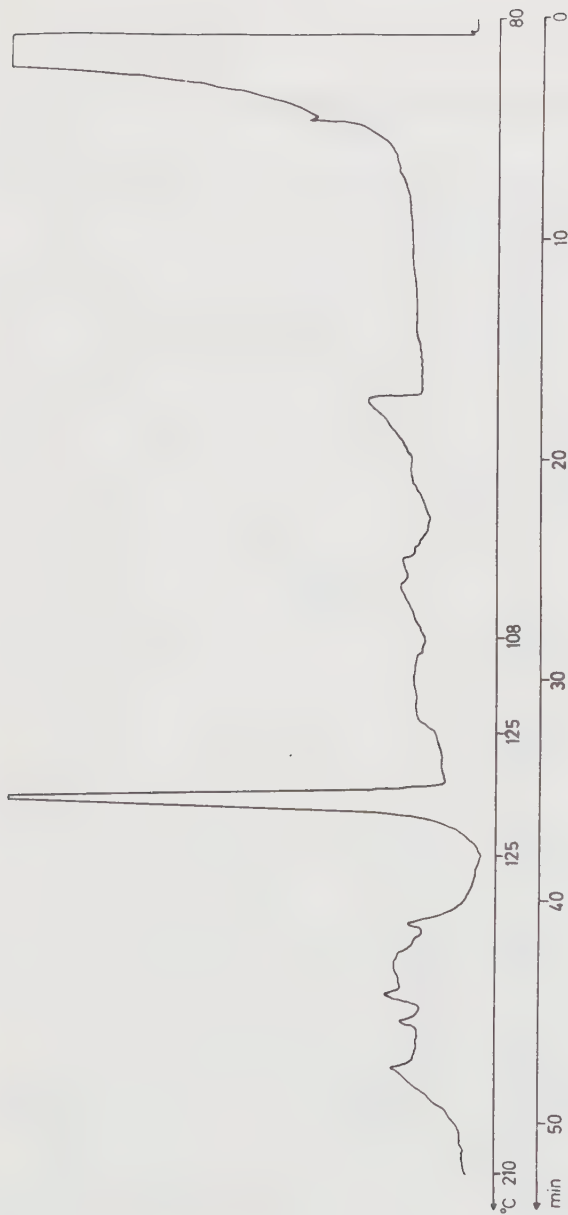
Wie alle Umsetzungen dieser Versuchsreihe führte auch die Reaktion zwischen Maltose und Methylammoniumacetat sehr schnell zu einer tiefbraunen Färbung des Reaktionsgemisches – die Viskosität der anfangs dünnflüssigen Schmelze nahm mit steigender Temperatur schnell zu, sodass bei der Endtemperatur von 156°C eine zähteigige, schwarze Masse vorlag. Das Gaschromatogramm (siehe Abbildung 12) des durch Extraktion gewonnenen Öls (6 g) lässt einen um mehrere Zehnerpotenzen grösseren Anteil an 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on (ca. 0,34%) gegenüber 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd (ca. 0,004%) und 2-Hydroxyacetylfuran (ca. 0,002%) erkennen (Prozentzahlen bezogen auf die ursprüngliche Zuckermenge). Auffallend in diesem Gaschromatogramm ist der ausgeprägte Peak einer von mir nicht identifizierten Substanz. Maltol, Isomaltol und 3,5-Dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on waren in diesem Fall im Reaktionsgemisch nicht nachweisbar.



- 3 2-Hydroxyacetyl-furan
- 4 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd
- 5 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-4-methyl-2-furaldehyd

4 3

5



3 2-Hydroxyacetylfuran

4 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd

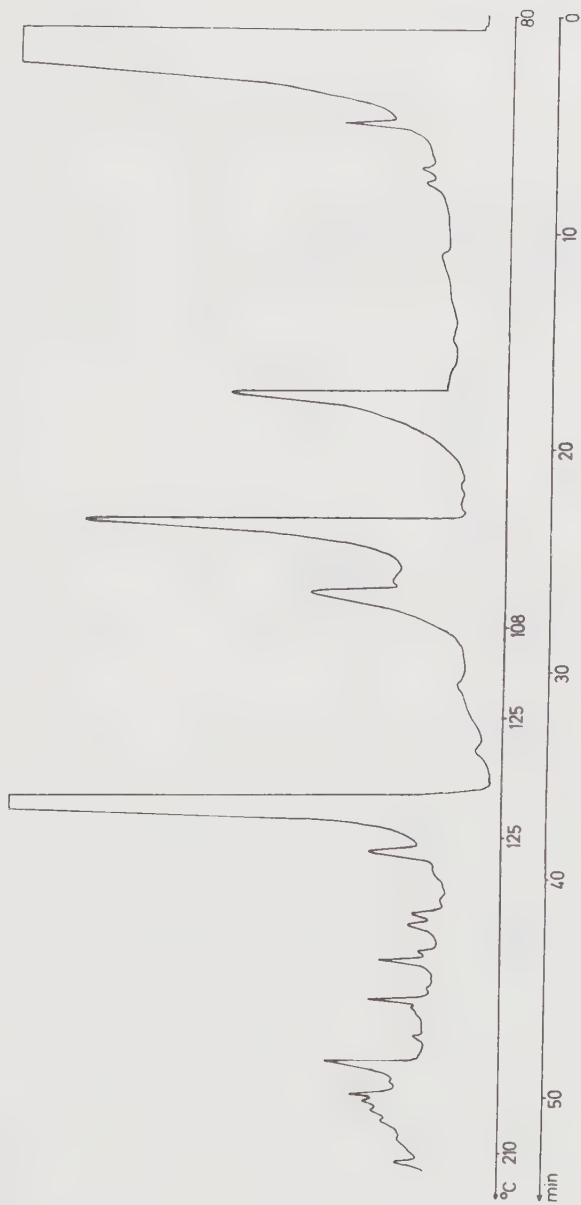
5 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on

Abbildung 12

Umsetzung von Lactose mit Methylammoniumacetat im Mol. -Verhältnis
3 : 1

Die Umsetzung von Lactose mit Methylammoniumacetat führte nicht wie bei den anderen Umsetzungen dieser Versuchsreihe zu einer flüssigen Schmelze, sondern unmittelbar zu einer braunen, teigigen Masse, die sich beim weiteren Erhitzen auf die Endtemperatur von 154°C harzartig verfestigte. Aus dem Reaktionsgemisch konnten durch Essigester-extraktion 7,7 g eines braunen Öls zur gaschromatographischen Untersuchung wie unter I beschrieben gewonnen werden. Das Gaschromatogramm (siehe Abbildung 13) lässt wieder in grösserer Menge (ca. 0,6%) 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on sowie Maltol (ca. 0,3%) und 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd (ca. 0,1%) erkennen; ausserdem sind 0,01% 2-Hydroxyacetylfuran sowie neun von mir nicht identifizierte Substanzen - davon eine in bemerkenswerter Menge - im Gaschromatogramm feststellbar. J. E. Hodge und Mitarbeiter berichten, dass beim Erhitzen von Lactose mit Piperidinacetat Isomaltol als eines der Hauptprodukte auftritt, während ich in den Reaktionsprodukten der Umsetzung von Lactose mit Methylammoniumacetat kein Isomaltol nachweisen konnte.

Vergleicht man die Maillard-Reaktionen, d. h. in diesem Fall den mit Ammoniumacetat katalysierten Abbau von Zuckern mit dem nur durch Hitze ausgelöst, so ist am auffälligsten, dass 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on in grösseren Mengen im ersten Fall auftritt. Bemerkenswert ist weiterhin, dass zwar Lactose nicht aber Maltose mit dem Alkylamin zu Maltol reagiert. Dagegen wird bei der thermischen Zersetzung bei höheren Temperaturen auch aus Maltose Maltol gebildet. Dieses Ergebnis zeigt erneut, dass frühere analytische Verfahren, bei denen Maltol über eine FeCl_3 -Farbreaktion bestimmt wurde, sicher falsche Ergebnisse gebracht haben, da durch die wenig spezifische Bildung einer Enol- FeCl_3 -Färbung auch andere Verbindungen erfasst werden.



2 Maltol

3 2-Hydroxyacetylfuran

4 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd

5 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on

Abbildung 13

Reaktions - partner			Verbindung im Extraktionsrückstand (mg)				
Zucker 250 g	Methylammoniumacetat (g)	Extraktionsrückstand (g)	2,3 - Dihydro - 3,5 - dihydroxy - 6 - methyl - 4H - pyran - 4 - on	Maltol	2 - Hydroxymethyl - 5 - furaldehyd	2 - Hydroxyacetyl-furan	Isomaltol
Glucose	79	114	1300	-	127	-	-
Glucose	20	97	900	-	1300	-	-
Lactose	20	77	1450	650	250	25	-
Maltose	20	60	845	-	11	5	-
Saccharose	20	45	490	-	250	6	-

Tabelle B

III. Umsetzung verschiedener Zucker mit einer Aminosäure (Alanin)

In weiteren Versuchen wurden Reaktionen der Aminosäure Alanin mit Mono- und Disacchariden untersucht. Es ist anzunehmen, dass die Bräunungen in Zucker/Aminosäure-Systemen ähnlich denen in Lebensmitteln ablaufen. Wie aus Abbildung 14 ersichtlich ist, weisen die Produkte von Aminosäure/Glucose Modellreaktionen ähnliche UV-Absorptionen auf, wie z.B. ein Extrakt aus Brotkruste.

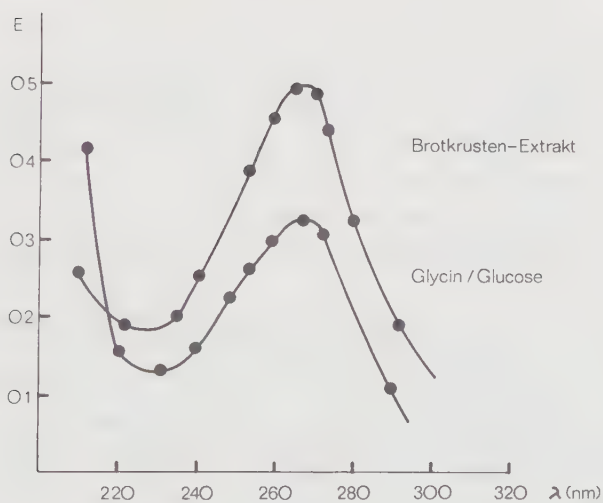


Abbildung 14

Von Th. Severin und Mitarbeitern (60, 94, 95, 96) wurden einige Arbeiten über Umsetzungen von Zuckern mit Aminosäuren durchgeführt.

H. Shigematsu und Mitarbeiter (97) erhitzen DL-x-Alanin und D-Glucose in Stickstoffatmosphäre und untersuchten die dabei entstandenen flüchtigen Reaktionsprodukte; sie fanden eine Anzahl von Pyrrolen und Pyrazinen sowie drei Furane - jedoch keine der in dieser Arbeit eingehend behandelten Verbindungen.

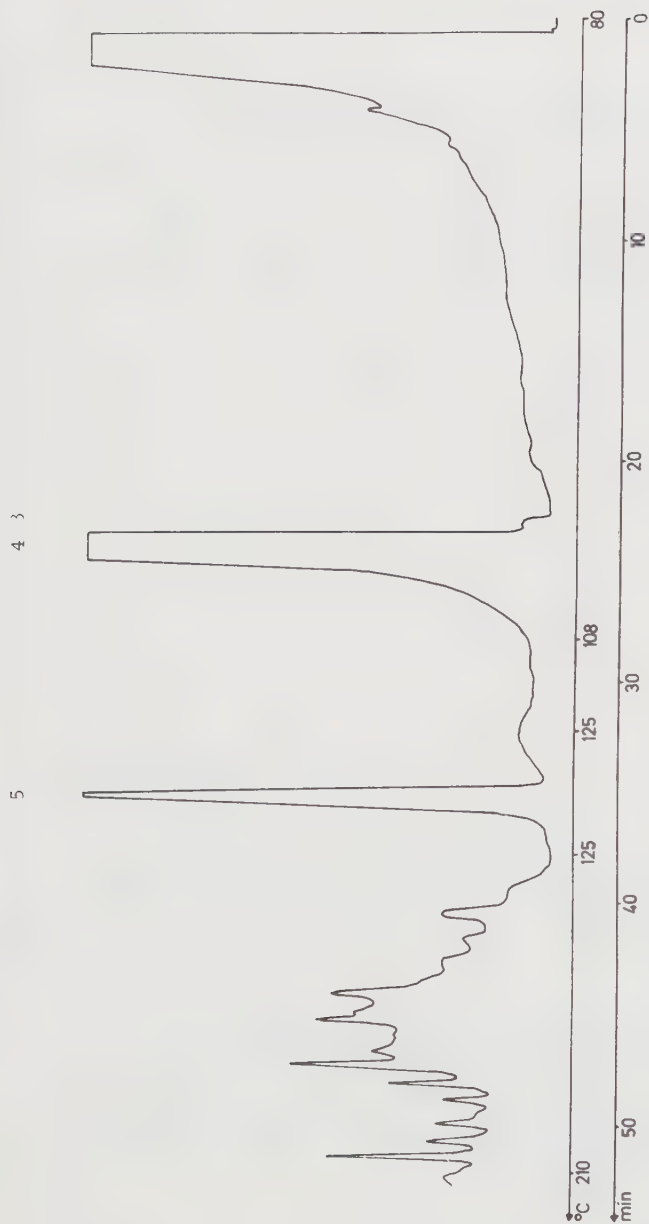
Ich habe die Reaktionskomponenten wieder trocken erhitzt und anschliessend nach dem unter I beschriebenen Analysengang aufgearbeitet.

Umsetzung von Glucose mit Alanin im Mol.-Verhältnis 60 : 1

Beim Erhitzen von Glucose mit Alanin entstand zunächst eine dünnflüssige Schmelze (135°C), die schnell unter heftiger Gasentwicklung zu einer zähen, schwarzbraunen Masse erstarrte. Die Reaktion wurde bei 175°C abgebrochen. Aus dem Reaktionsgemisch konnten ca. 2,9 g eines schwarzen, zähen Öls zur gaschromatographischen Analyse gewonnen werden.

Trotz der relativ geringen Konzentration von Alanin (ca. 1,5% der Zuckermenge) im Reaktionsgemisch ergeben sich gegenüber der Karamellisierung von Glucose deutliche Unterschiede (siehe Abbildung 15).

Während im Glucosekaramel nur ca. 0,0004% 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on und ca. 0,05% 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd nachzuweisen waren, sind im Röstprodukt von Glucose mit Alanin ca. 0,1% 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on und ca. 0,56% 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd neben ca. 0,08% 2-Hydroxyacetylfuran enthalten (Prozentzahlen bezogen auf die ursprüngliche Zuckermenge); Isomaltol und 3,5-Dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on waren nicht nachweisbar - dagegen 15 andere, nicht identifizierte Verbindungen in geringer Menge.



- 3 2-Hydroxyacetyl-furan
- 4 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd
- 5 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on

Abbildung 15

Umsetzung von Glucose mit Alanin im Mol. -Verhältnis 6 : 1

Die Mischung von Glucose mit Alanin im Mol. -Verhältnis 6 : 1 führte beim Rösten zu einer starken Reaktion der Komponenten; bereits bei 115°C lag eine tiefbraune zähe Masse vor; beim weiteren Erhitzen verfärbte sich das Reaktionsgemisch unter Gasentwicklung schwarzbraun und bildete feste Klumpen. Es wurde bis 135°C erhitzt und anschliessend für die gaschromatographische Trennung aufgearbeitet. Das Gaschromatogramm des Extraktes (3,7 g) (siehe Abbildung 16) lässt vergleichbare Mengen an 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on (ca. 0,2%) und 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd (ca. 0,3%) sowie 12 nicht identifizierte Substanzen, die in geringer Menge vorliegen, erkennen (Prozentzahlen bezogen auf die ursprüngliche Zuckermenge).

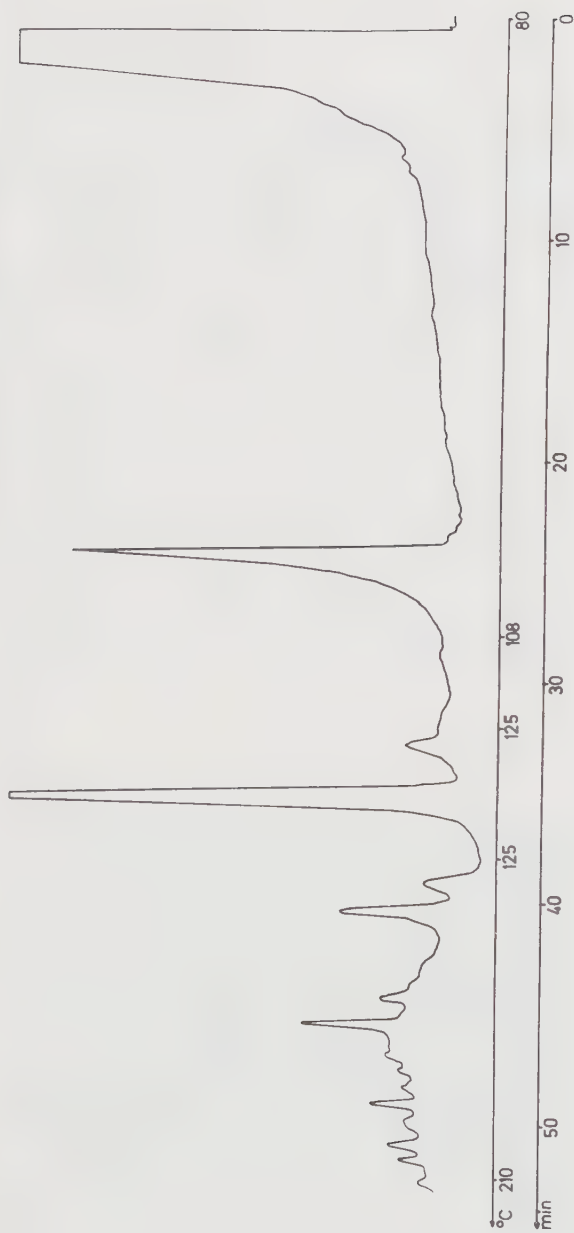
Der Einfluss der Aminosäure auf die Entstehung von 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on und die vergleichsweise geringere Ausbeute an 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd aus Glucose ist offenkundig. Während bei der Karamellisierung von Glucose 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd in 100-fach grösserer Menge als 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on entsteht, liegt das Mengenverhältnis der beiden Substanzen bei nur ca. 1%igem Zusatz von Methylammoniumacetat bei 1:10 zu Gunsten des 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on. Wie die Versuche zeigten, wirken die Aminosäure und das Alkylamin gleichartig auf Zucker. Eine Zusammenfassung dieser Ergebnisse findet sich in Tabelle C.

Umsetzung von Lactose mit Alanin im Mol. -Verhältnis 3 : 1

Das Gemisch Lactose/Alanin wurde beim Erhitzen in der offenen Porzellanschale zunächst braun, ohne zu schmelzen. Bei 173°C begann das intensiv dunkelbraune, körnige Gemisch zu schmelzen und dabei

4

5

1
2
4
-

4 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd

5 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on

Abbildung 16

Reaktion:	% Verbindung auf die eingesetzte Zuckermenge			
	2,3-Dihydro - 3,5 dihydroxy - 6-methyl-4H- pyran-4-on	5-Hydroxy - methyl- 2-fural - dehyd	2 Hydroxy - acetylfuran	3,5-Dihydro - 6-methyl 4-H-pyran -4-on
Karamellisierung von Glucose	0,0004%	0,04%	0,001%	0
Glucose + $\text{CH}_3\text{-NH}_4^+$ -ac ⁻ Mol.-Verh. 16:1	0,3%	0,5%	0	0,03%
Glucose + $\text{CH}_3\text{-NH}_4^+$ -ac ⁻ Mol.-Verh. 6:1	0,5%	0,05%	0	0,08%
Glucose + Alanin Mol.-Verh. 60:1	0,1%	0,5%	0,008%	0
Glucose + Alanin Mol.-Verh. 6:1	0,2%	0,3%	0,002%	0,04%

Tabelle C

zähflüssig zu werden. Ohne weitere Temperaturerhöhung wurde die Reaktion einige Minuten später abgebrochen; aus dem Reaktionsgemisch konnte durch Extraktion mit Essigester ein zähes, dunkelbraunes Öl für die gaschromatographische Untersuchung gewonnen werden. Das Gaschromatogramm (siehe Abbildung 17) zeigt eine bedeutend grössere Menge (ca. 0,13%) 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on als 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd (ca. 0,05%) und 2-Hydroxyacetylfuran (ca. 0,02%). Elf weitere, in vergleichsweise geringer Menge auftretende Verbindungen wurden nicht identifiziert (Prozentzahlen bezogen auf die ursprüngliche Zuckermenge).

4 3

5

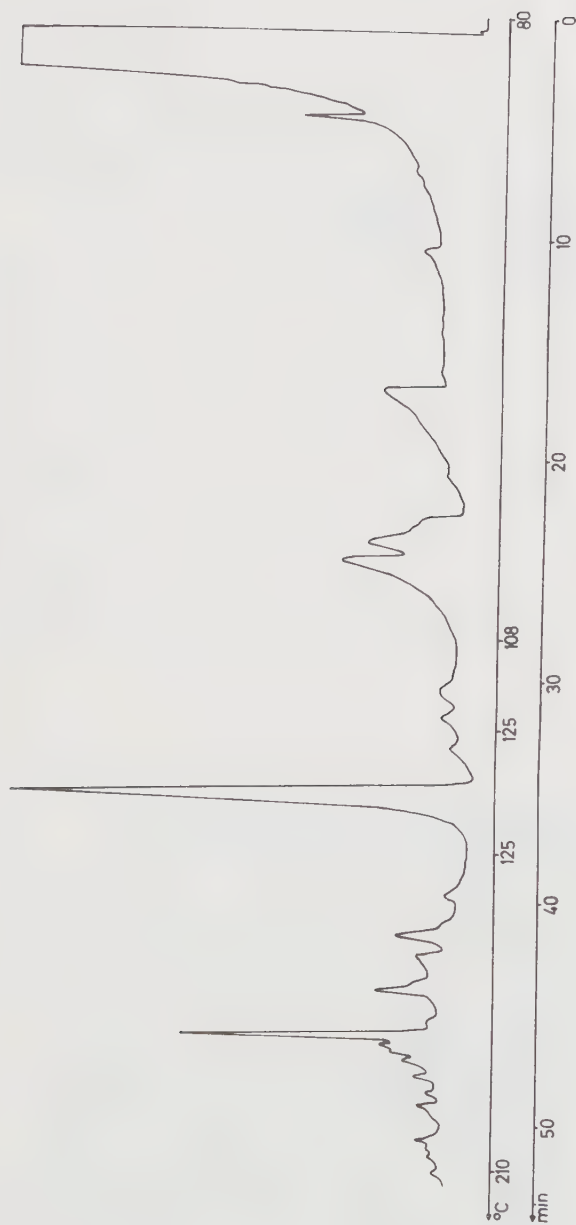


Abbildung 17

Reaktion	% Verbindung auf die eingesetzte Zuckermenge			
	2,3-Dihydro- 3,5-dihydroxy- 6-methyl-4H- pyran- 4 -on	5-Hydroxy- methyl- 2- furaldehyd	2-Hydroxy- acetyl- furan	Maltol
Lactose karamellisiert	0004%	005%	0002%	000%
Lactose + $\text{CH}_3\text{-NH}_4^+ \text{ac}^-$ Mol.-Verhältnis 3:1	058%	010%	001%	026%
Lactose + Alanin Mol.-Verhältnis 3:1	013%	005%	001%	000%

Tabelle D

Umsetzung von Saccharose mit Alanin im Mol.-Verhältnis 3 : 1

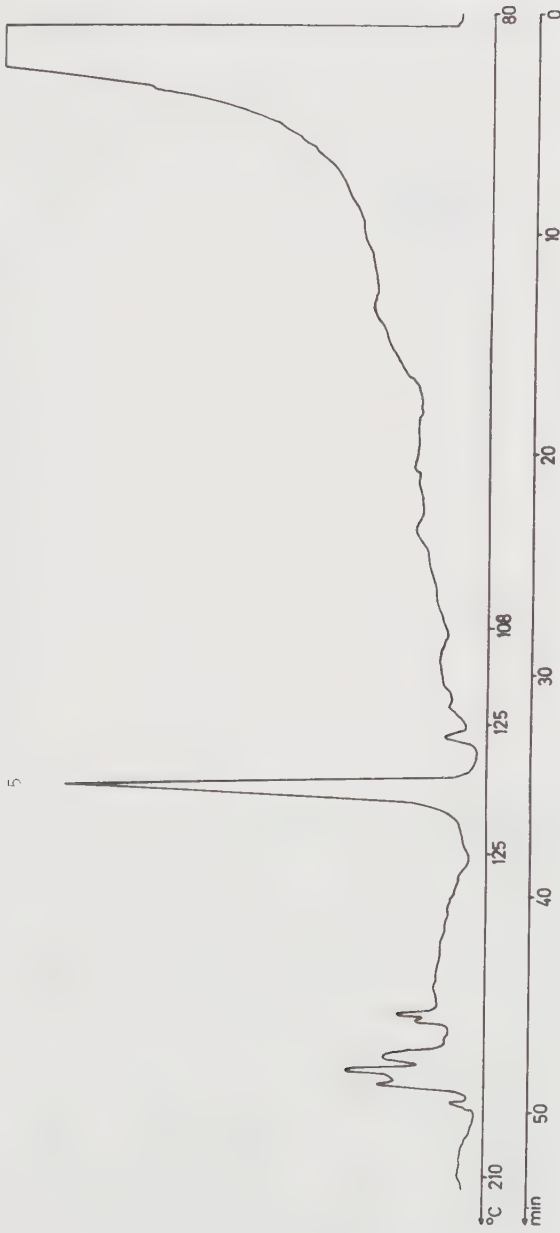
Saccharose und Alanin wurden im Mol.-Verhältnis 3 : 1 geröstet.

Bei 145°C lag eine braune, zähflüssige Schmelze vor, nach 20 Minuten Verweilzeit bei dieser Temperatur wurde die Reaktion beendet.

Durch Extraktion isolierte ich aus dem Reaktionsgemisch ein dunkelbraunes Öl zur gaschromatographischen Trennung. Wie aus

Abbildung 18 ersichtlich ist, tritt allein 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on von den untersuchten Substanzen in bemerkenswerter Menge (ca. 0,14% bezogen auf die ursprüngliche Zuckermenge) auf; 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd, 2-Hydroxyacetyl-furan.

Maltol und Isomaltol sind nicht in nachweisbaren Mengen in dem peakarmen Gaschromatogramm zu erkennen.



5 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one

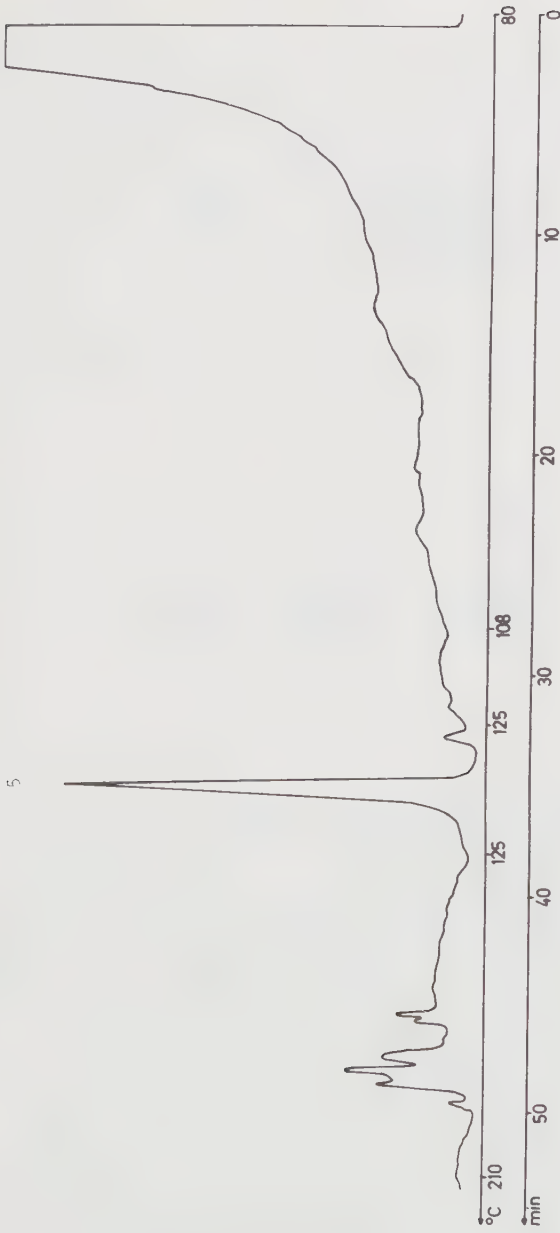
Abbildung 18

Reaktion	%Verbindung bezogen auf die eingesetzte Zuckermenge		
	2,3-Dihydro- 3,5-dihydroxy- 6-methyl-4H- pyran-4-on	5-Hydroxy-methyl- 2-furaldehyd	2-Hydroxy- acetylfuran
Saccharose karamellisiert	0,002 %	0,2 %	0,01 %
Saccharose + $\text{CH}_3\text{-NH}_4^+ \text{ ac}^-$ Mol.-Verhältnis 3 : 1	0,20 %	0,10 %	0,002 %
Saccharose + Alanin Mol.-Verhältnis 3 : 1	0,15 %	0,0000 %	0,0000 %

Tabelle E

Umsetzung von Maltose mit Alanin im Mol. -Verhältnis 3 : 1

Maltose bildet beim Erhitzen mit Alanin bei 120°C eine hellbraune Schmelze; die Temperatur der sich schnell braunverfärbenden teigigen Masse konnte bei heftiger Reaktion und unter starker Dampfentwicklung bis 135°C gesteigert werden. Aus dem Reaktionsgemisch wurde durch Essigsäureäthylesterextraktion ein zähes, schwarzbraunes Öl für die gaschromatographische Analyse gewonnen. Das Gaschromatogramm (siehe Abbildung 19) zeigt einen grösseren Anteil 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on (ca. 0,02 %) gegenüber ca. 0,02 % 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd, ca. 0,003 % 2-Hydroxyacetylfuran und ca. 0,00004 % Maltol (Prozentzahlen bezogen auf die ursprüngliche Zuckermenge); bemerkenswert ist hier das Auftreten von 3,5-Dihydroxy-6-



5 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one

Abbildung 18

Reaktion	%Verbindung bezogen auf die eingesetzte Zuckermenge		
	2,3-Dihydro- 3,5-dihydroxy- 6-methyl-4H- pyran-4-on	5-Hydroxy-methyl- 2-furaldehyd	2-Hydroxy- acetylfuran
Saccharose karamellisiert	0,002%	0,2%	0,01%
Saccharose + $\text{CH}_3\text{-NH}_4^+ \text{ ac}^-$ Mol - Verhältnis 3 : 1	0,20%	0,10%	0,002%
Saccharose + Alanin Mol - Verhältnis 3 : 1	0,15%	0,000%	0,000%

Tabelle E

Umsetzung von Maltose mit Alanin im Mol. -Verhältnis 3 : 1

Maltose bildet beim Erhitzen mit Alanin bei 120°C eine hellbraune Schmelze; die Temperatur der sich schnell braunverfärbenden teigigen Masse konnte bei heftiger Reaktion und unter starker Dampfentwicklung bis 135°C gesteigert werden. Aus dem Reaktionsgemisch wurde durch Essigsäureäthylesterextraktion ein zähes, schwarzbraunes Öl für die gaschromatographische Analyse gewonnen. Das Gaschromatogramm (siehe Abbildung 19) zeigt einen grösseren Anteil 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on (ca. 0,02 %) gegenüber ca. 0,02% 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd, ca. 0,003 % 2-Hydroxyacetylfuran und ca. 0,00004% Maltol (Prozentzahlen bezogen auf die ursprüngliche Zuckermenge); bemerkenswert ist hier das Auftreten von 3,5-Dihydroxy-6-

6-methyl-4H-pyran-4-on (ca. 0,01%) sowie von zwei nicht identifizierten Verbindungen im Bereich der leichtflüchtigen Substanzen und von drei nicht identifizierten Verbindungen, die bei hohen Säulentemperaturen scharfe Peaks geben. Erneut wird durch das Ergebnis der Umsetzung von Maltose mit Alanin der Einfluss der Aminkomponente auf die Bildung von 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on beim thermischen Zuckerabbau deutlich (siehe Tabelle F).

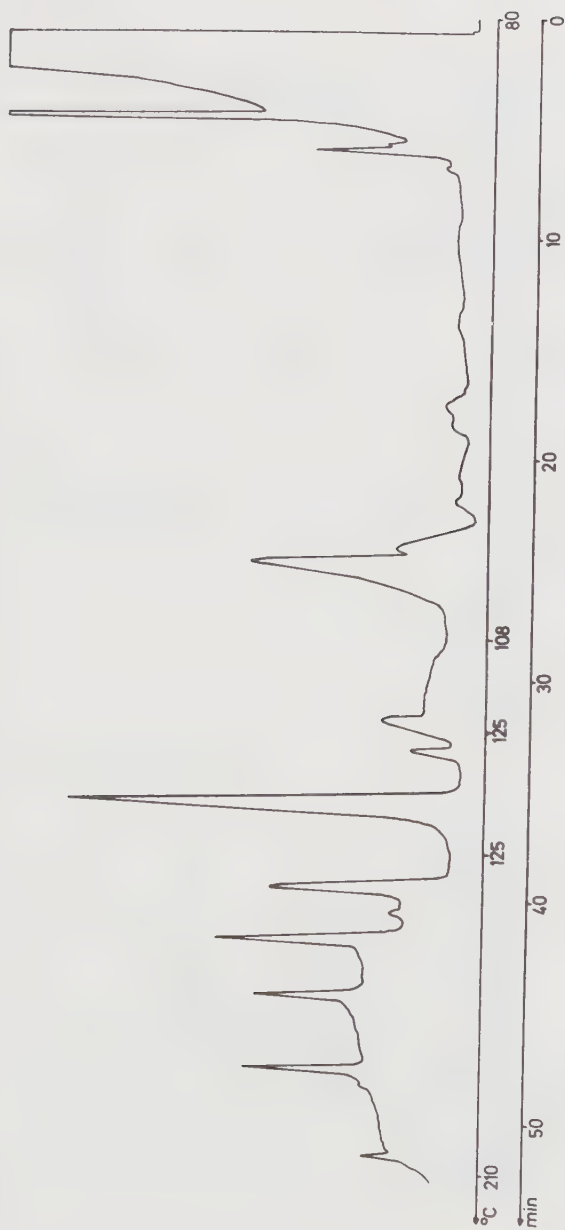
In Tabelle G sind die Untersuchungsergebnisse der Versuchsreihe, in der verschiedene Zucker mit Alanin umgesetzt wurden, gegenübergestellt:

Reaktion	% Verbindung auf die eingesetzte Zuckermenge				
	2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on	5-Hydroxy-methyl-2-furaldehyd	2-Hydroxy-acetylfuran	Maltol	3,5-Dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on
Maltose karamellisiert	0004%	006%	0002%	0003%	0001%
Maltose + $\text{CH}_3\text{-NH}_4^+ \text{ ac}^-$ Mol - Verhältnis 3 : 1	034%	0004%	0002%	000%	000%
Maltose + Alanin Mol - Verhältnis 3 : 1	002%	001%	0002%	00004%	0005%

Tabelle F

Reaktionspartner			Verbindung im Extraktionsrückstand (mg)					
Zucker 250 g	Alanin (g)	Extraktionsrückstand (g)	2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on	Maltol	2-Hydroxymethyl-5-furaldehyd	2-Hydroxyacetyl-furan	Isomaltol	3,5-Dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on
Glucose	25	29	240	0	1250	20	0	0
Glucose	25	37	500	0	760	6	0	55
Lactose	25	32	330	0	140	45	0	0
Maltose	25	0,9	60	1	45	8	0	11
Saccharose	25	28	350	0	0	0	0	0

Tabelle G



- 2 Maltol
- 3 2-Hydroxyacetyluran
- 4 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd
- 5 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on

Abbildung 19

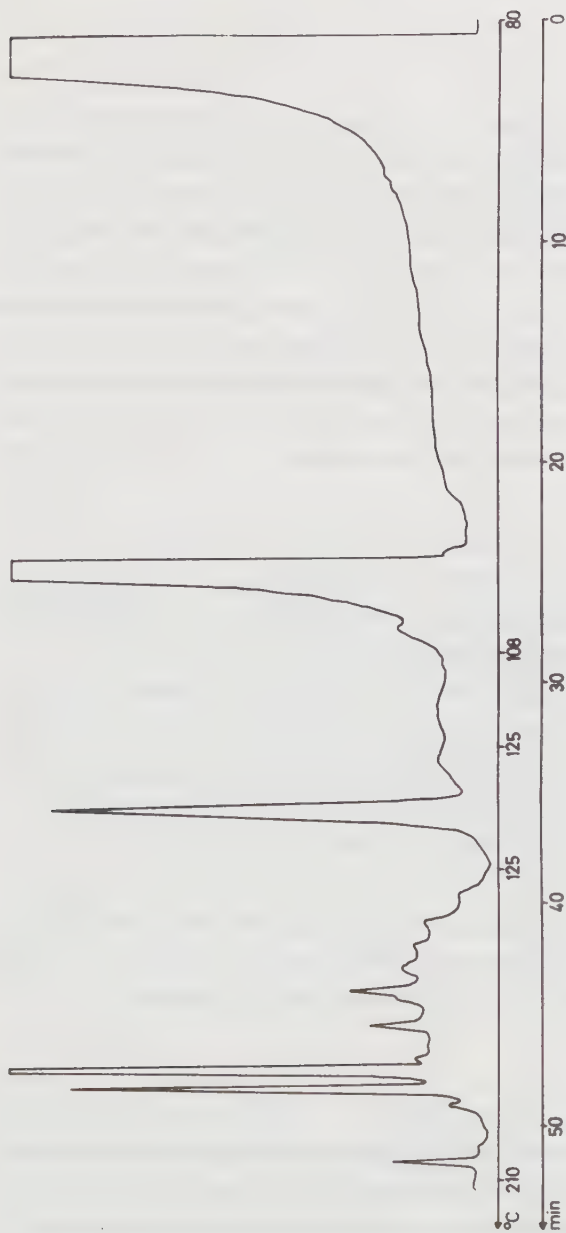
Umsetzung von Glucose mit Casein im Gew.-Verhältnis 10 : 1

Glucose wurde mit dem Phosphoprotein Casein im Gew.-Verhältnis 10 : 1 erhitzt. Bei 125°C bildete sich ein brauner Brei, der bei 155°C unter heftiger Gasentwicklung aufschäumte und bis 175°C erhitzt wurde. Durch Essigsäureäthylesterextraktion des entstandenen Reaktionsgemisches konnte ein schwarzbraunes Öl zur gaschromatographischen Trennung gewonnen werden. Das Gaschromatogramm (siehe Abbildung 20) lässt ca. 0,006% 2-Hydroxyacetyl-furan, ca. 0,7% 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd und ca. 0,15% 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on - jedoch weder Maltol noch Isomaltol - erkennen. Auch hier wird wieder der Einfluss der Aminokomponente auf die Ausbeute an 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on deutlich (siehe Tabelle H).

Reaktionspartner	Verbindung im Extraktionsrückstand (mg)						
250g Glucose / 25g Casein	Extraktionsrückstand	2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on	Maltol	2-Hydroxymethyl-5-furaldehyd	2-Hydroxyacetyl-furan	Isomaltol	3,5-Dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on
	32g	380	0	1900	16	0	0

Tabelle H

5 4 3



- 3 2-Hydroxyacetylfuran
- 4 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd
- 5 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on

Abbildung 20

A. Feretti und V.P. Flanagan (98, 99) haben die flüchtigen Reaktionsprodukte eines Lactose/Casein Bräunungssystems untersucht und dabei zahlreiche Furane, Pyrazine, Pyrrole, Lactone usw. identifiziert. In der ersten Veröffentlichung (98) berichten die Autoren über das Vorkommen von Maltol - jedoch nicht über das Vorkommen der fünf anderen Verbindungen, die im Mittelpunkt meiner Untersuchungen stehen; in einer zweiten Veröffentlichung von Flanagan und Feretti (99) wird 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd als eines der Hauptreaktionsprodukte des Bräunungssystems Lactose/Casein aufgeführt - jedoch keine andere der von mir eingehend untersuchten Verbindungen.

IV. Untersuchung von Lebensmitteln auf den Gehalt an 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on, Maltol, Isomaltol, 2-Hydroxyacetyl-furan und 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd

In der einleitenden Beschreibung der einzelnen Verbindungen finden sich bereits Hinweise auf Vorkommen von Maltol, Isomaltol und 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd in verschiedenen Lebensmitteln; das Auftreten von 2-Hydroxyacetyl-furan und 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on bleibt in der Literatur weitgehend unerwähnt.

Mit Hilfe des von mir entwickelten analytischen Verfahrens sollten Lebensmittel untersucht werden, in denen einige dieser Verbindungen - vor allem 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on - vermutlich in nennenswerten Mengen enthalten sein könnten.

Untersuchung von dunklem Biermalz

Ein interessantes Beispiel für die Melanoidinbildung ist die Biermalzbereitung in Brauereien. Hierbei lässt man Rohgerste unter Luftzutritt keimen und erreicht dadurch die teilweise enzymatische Spaltung der

Stärke zu Maltose und Glucose sowie Saccharose und Fructose; es entsteht auf diese Weise ein Zuckergehalt von ca. 8% im Grünmalz. Proteinasen und Peptidasen bauen beim Keimen in beträchtlichem Umfang das Eiweiss der Gerste zu löslichen Produkten und freien Aminosäuren ab. Das anschliessende Darren wird bei hellem Malz bei Temperaturen bis zu ca. 85°C und bei dem besonders melanoidinreichen dunklen Malz bei maximal 105°C bis 140°C durchgeführt. Das gedarrte Malz wird zur Bereitung der Bierwürze in Wasser bei ca. 70°C aufgelöst, dabei können Maillard-Produkte entstehen. Sowohl beim Darren wie auch beim Herstellen der Maische reagieren die reduzierenden Zucker mit Aminosäuren bzw. mit Peptiden.

Ich habe gedarrtes dunkles Malz, das mir von einer Brauerei^{†)} zur Verfügung gestellt wurde, ähnlich dem Arbeitsvorgang in der Brauerei fein geschrotet. Dieses Malzschrot wurde mit Wasser aufgeschlämmt und im Perforator mit Essigsäureäthylester ausgezogen. Der vom Lösungsmittel befreite Extraktionsrückstand diente zur Trennung. Das Gaschromatogramm (siehe Abbildung 21) lässt ca. 0,008% 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on, 0,0006% Maltol und ca. 0,0001% 2-Hydroxyacetylfuran neben drei nicht identifizierten Verbindungen höherer Flüchtigkeit erkennen (Prozentzahlen bezogen auf die eingesetzte Menge Biermalz). 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd und Isomaltol sind unter diesen Versuchsbedingungen nicht nachweisbar. Bemerkenswert ist der um mehr als eine Zehnerpotenz höhere Gehalt an 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on gegenüber Maltol.

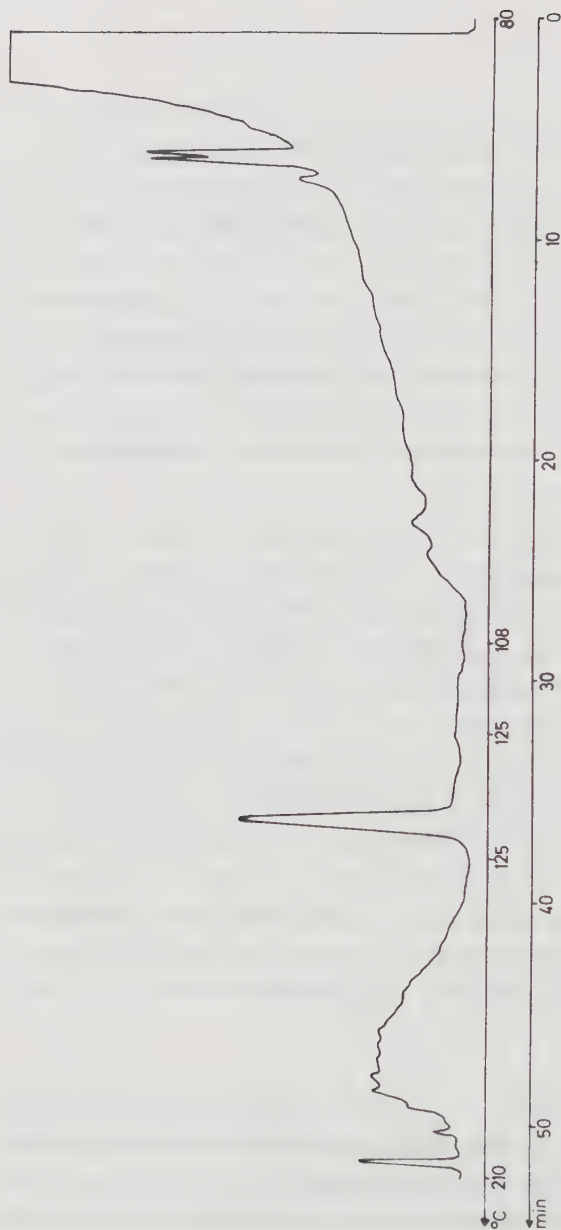
Untersuchung von Starkbier

Die thermischen Prozesse der Malzherstellung laufen bei sehr geringem Wassergehalt ab. Im anschliessenden Maischprozess wird das geschrotete Malz mit Wasser durchmischt und die Extraktausbeute durch Enzymtätigkeit

^{†)} Hersteller: Löwenbräu, München

4 3

5



3 2-Hydroxyacetyl-furan

4 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd

5 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on

Abbildung 21

beträchtlich gesteigert. Das darauf folgende Kochen der Würze mit Hopfen im wasserreichen Medium lässt u.a. Melanoidine entstehen. Um den Einfluss des Kochprozesses auf die Melanoidinbildung festzustellen, wurde von mir handelsübliches, dunkles Starkbier mit einem Stammwürzgehalt von ca. 18% untersucht. Das Starkbier wurde entgast und mit Essigsäureäthylester ausgezogen; der Lösungsmittel-extrakt ergab nach dem Eindampfen ein zähes, braunes Öl, das nach Silylierung gaschromatographisch analysiert wurde (siehe Abbildung 22). Das Gaschromatogramm zeigt einen bemerkenswert hohen Gehalt an Maltol (ca. 0,02%) - wesentlich mehr als in gedarrtem Malz nachgewiesen wurde. Auch 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on ist in Starkbier enthalten - jedoch mit ca. 0,0003% in bedeutend geringerer Menge als im gedarrten Malz. Ausserdem sind im Starkbier ca. 0,0002% 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd und ca. 0,0004% Isomaltol enthalten - beide Verbindungen konnten im gedarrten Malz-Extrakt nicht nachgewiesen werden (Prozentzahlen bezogen auf die eingesetzte Biermenge). 2-Hydroxyacetyl-furan ist im Essigsäureäthylesterextrakt des Starkbieres in sehr geringer Menge vorhanden (104).

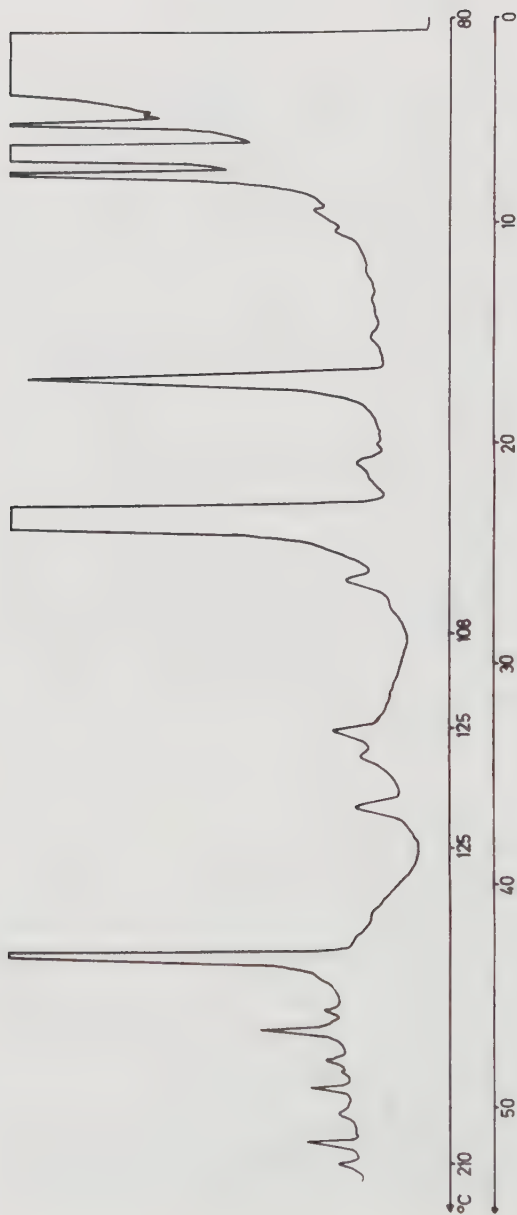
Untersuchung von diastatischem Malzextrakt

Malzextrakte sind angenehm malzartig schmeckende, dunkelbraune Sirupe, die aus gekeimter Gerste durch Ausziehen mit Wasser von etwa 60°C gewonnen werden; die filtrierte Maische wird im Vakuum eingedampft. Malzextrakt findet Verwendung als Backhilfsmittel, Kräftigungsmittel, bei der Herstellung von Malzbonbons usw.. Wesentlich ist der Gehalt an Maltose (mindestens 55%) und Fermenten.

Ein handelsüblicher Malzextrakt⁺⁾ wurde in Wasser aufgenommen und mit Essigsäureäthylester extrahiert. Als Eindampfrückstand blieb ein zähes Öl zurück, das ich nach Silylierung gaschromatographisch

⁺⁾ Hersteller: Diamalt, München

5 4 2 1



1 Isomaltol

2 Maltol

4 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd

5 2,3-Dihydro 3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on

Abbildung 22

trennte (siehe Abbildung 23). Maltol übertrifft im Malzextrakt die anderen, von mir geprüften Verbindungen mengenmässig (ca. 0,002%); 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on und 3,5-Dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on sind mit jeweils ca. 0,0004% etwa in gleicher Menge vorhanden, während der Gehalt an 5-Hydroxy-methyl-2-furaldehyd geringer ist (ca. 0,0001%) und 2-Hydroxyacetylfuran und Isomaltol überhaupt nicht nachweisbar sind (Prozentzahlen bezogen auf die eingesetzte Menge Malzextrakt).

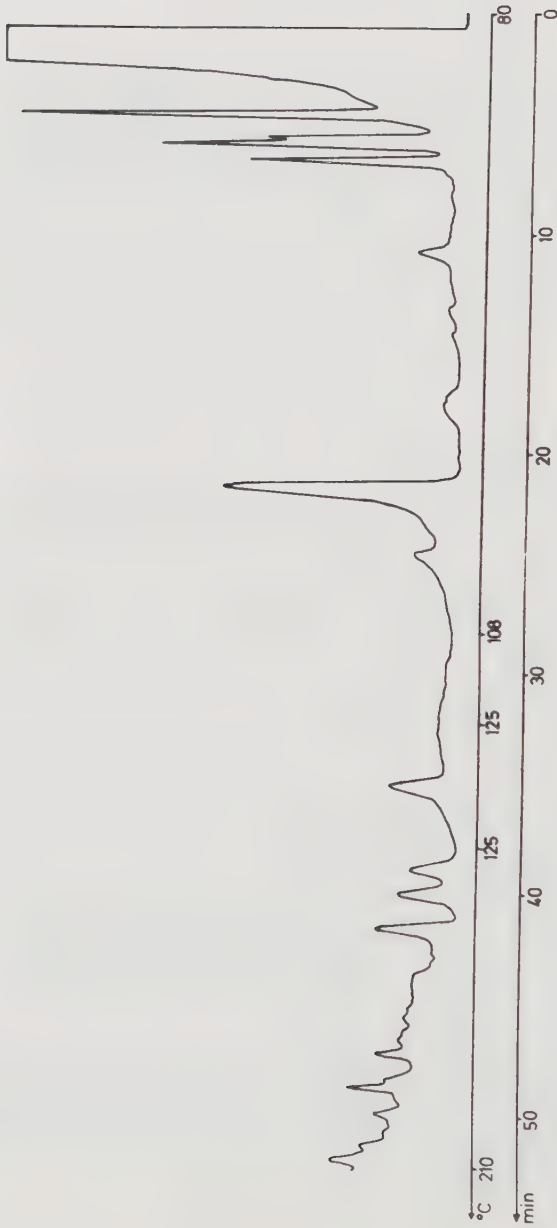
Untersuchung von Karamel-Bonbons

Karamel-Bonbons werden unter den für Maillard-Reaktionen typischen Bedingungen hergestellt. Zucker wird dabei zuerst unter Zugabe von Milch oder Sahne auf ca. 170°C erhitzt. Mit zunehmender Erhitzungsdauer und Temperaturerhöhung tritt eine rasch fortschreitende Bräunung - die Melanoidinbildung - des Zuckerkaramels ein; gleichzeitig entsteht das typische Karamelaroma, das durch geeignete Zusätze zu den Ausgangsprodukten noch verfeinert werden kann.

Die wässrige Emulsion der auf diese Art industriell hergestellten, dunklen Karamelbonbons extrahierte ich mit Essigsäureäthylester im Perforator und destillierte anschliessend das Lösungsmittel im Vakuum ab. Der lösungsmittelfreie Rückstand musste durch Verteilung in den nicht mischbaren Lösungsmitteln Acetonitril und Petroläther entfettet werden. Nach Abdampfen des Acetonitril erfolgte die gaschromatographische Trennung des fettfreien, öligen Rückstandes.

Das Gaschromatogramm (siehe Abbildung 24) mit einer Vielzahl von Peaks für Zuckerumwandlungsprodukte beweist die gute Trennleistung und den Aussagewert des für diese Aufgabenstellung entwickelten Analysenverfahrens.

6 5 4 2



- 2 Maltol
- 4 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd
- 5 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on
- 6 3,5-Dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on

Abbildung 23

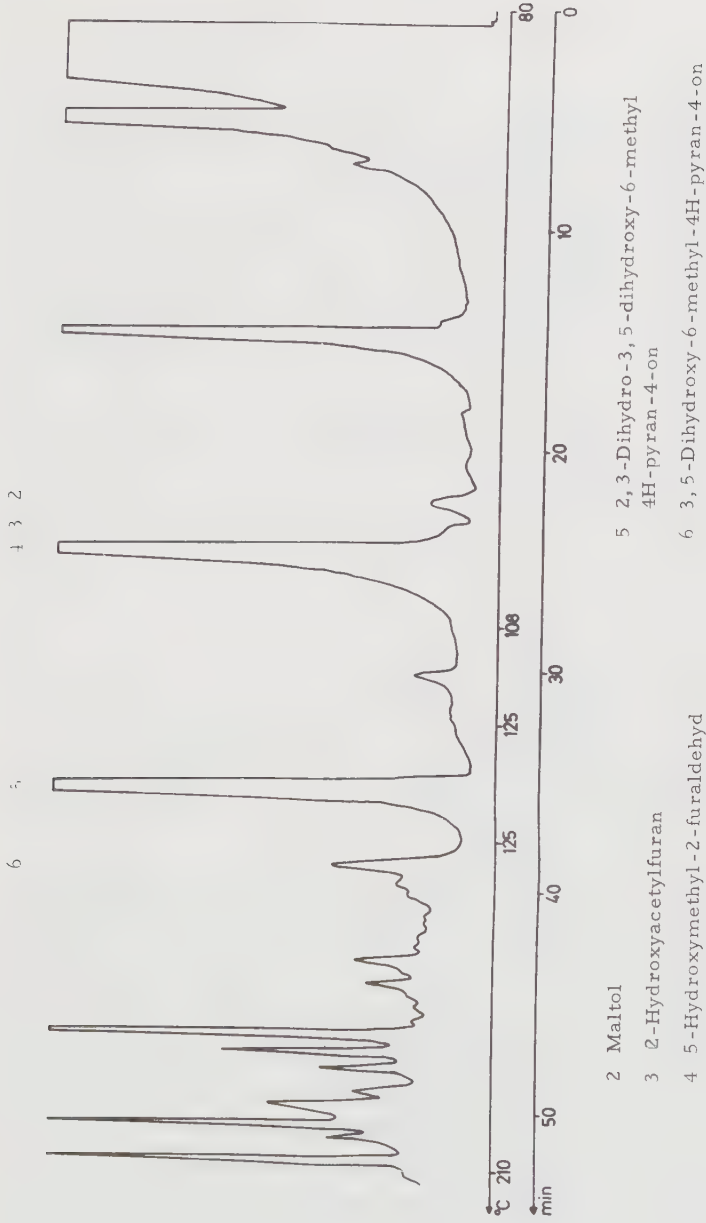


Abbildung 24

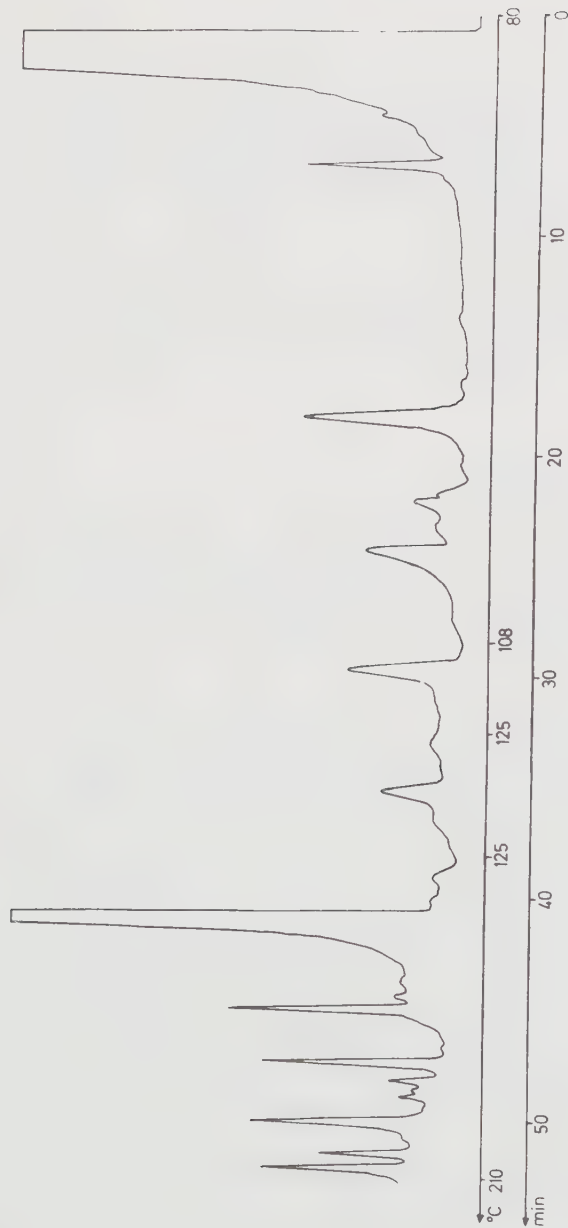
2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on konnte in Karamelbonbons in vergleichsweise grosser Menge (ca. 0,02%) nachgewiesen werden. Diese Substanz ist offensichtlich als Inhaltsstoff mengenmässig bedeutend wichtiger als z.B. Maltol (ca. 0,0005%) oder 2-Hydroxyacetylfuran (ca. 0,0003%); nur 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd liegt unter den identifizierten Zuckerumwandlungsprodukten in vergleichbarer Menge vor (Prozentzahlen bezogen auf die eingesetzte Menge Karamelbonbons).

Interessant ist auch hier der Nachweis von 3,5-Dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on (ca. 0,001%). Neben den beschriebenen Verbindungen zeigt das Gaschromatogramm eine grössere Anzahl von nicht identifizierten Inhaltstoffen in Karamelbonbons; einige dieser Verbindungen finden sich auch in anderen Untersuchungsmaterialien.

Untersuchung von gebrannten Mandeln

Die auf Jahrmärkten feilgehaltenen gebrannten Mandeln werden in einer Schmelze von heissem Zucker, der im allgemeinen noch mit Zimt aromatisiert wird, hergestellt. Ähnlich wie beim Dragieren werden dabei die Mandeln mit einer karamellisierten Zuckerschicht überzogen.

Solche handelsüblichen gebrannten Mandeln wurden von mir mit heissem Wasser ausgewaschen. Die braungefärbte Lösung der karamellisierten Überzugsmasse dekantierte ich ab, um sie anschliessend mit Essigsäure-äthylester zu extrahieren. Der vom Lösungsmittel befreite Extrakt musste noch mit Acetonitril/Petroläther zur weitgehenden Entfettung ausgeschüttelt werden. Die Acetonitril-Phase wurde eingedampft und der zurückgebliebene schmierige Rückstand diente zur gaschromatographischen Trennung. Das Gaschromatogramm (siehe Abbildung 25) lässt eine verhältnismässig grosse Menge 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on (ca. 0,0002%) erkennen; in grösserer Menge liegt 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd (ca. 0,0005%) vor. Die Anteile an Maltol (ca. 0,00006%) und 2-Hydroxyacetylfuran (ca. 0,000007%) fallen dagegen deutlich ab.



- 2 Maltol
 3 2-Hydroxyacetyl-furan
 4 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd
 5 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on
 6 3,5-Dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on

Abbildung 25

Auch hier konnte 3,5-Dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on wieder in grösserer Menge (ca. 0,0001%) nachgewiesen werden. Isomaltol wurde nicht gefunden (Prozentzahlen bezogen auf die eingesetzte Menge gebrannter Mandeln).

In diesem Gaschromatogramm treten sowohl im leichterflüchtigen, wie auch im schwerflüchtigen Bereich einige Peaks für Substanzen auf, die von mir nicht identifiziert wurden.

Untersuchung von Brotkruste

Auf Grund der Entstehung sollte auch Brotkruste in diesem Zusammenhang ein interessantes Untersuchungsmaterial sein. In der Einleitung habe ich bereits darauf hingewiesen, dass Backe (71) erstmals Isomaltol neben Maltol durch Wasserdampfdestillation aus Brotkruste von Milchbrot isolieren konnte.

Die Brotkruste bildet sich beim Backprozess bei Ofentemperaturen von 200° - 250°C und nimmt dabei mehr oder minder dunkle Färbung an, gleichzeitig sinkt der ursprüngliche Wassergehalt des Brotteiges von 42% - 50% auf 10% - 15% in der Brotkruste. Dagegen steigt die Temperatur im Inneren des Gebäcks, der Brotkrume, auf maximal 100°C , wobei sich der Wassergehalt des Teiges praktisch nicht verändert. Sowohl die Temperatur, wie auch der Wassergehalt beim Backprozess begünstigen also gerade in der Brotkruste den thermischen Abbau z.B. der Zucker, wie auch die Melanoidin-Bildung. Die Maillard-Produkte sind für den Geruch und die Geschmacksbildung des Brotes ausschlaggebend. Für meine Untersuchungen habe ich geschälte Brotkrustenstücke eines Graubrottes mehrere Stunden mit Essigsäureäthylester extrahiert und anschliessend den vom Lösungsmittel befreiten Rückstand der gaschromatographischen Trennung unterzogen.

Das Gaschromatogramm (siehe Abbildung 26) zeigt einen relativ hohen Gehalt an Maltol (ca. 0,027%) in Brotkruste, dagegen keine nachweisbaren Mengen an Isomaltol. 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on tritt in annähernd vergleichbarer Menge - nämlich mit ca. 0,015% auf. Neben diesen beiden Verbindungen konnte nur noch 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd in geringer Menge (ca. 0,0004%) nachgewiesen werden (Prozentzahlen bezogen auf die eingesetzte Menge Brotkruste). Erwähnenswert bleibt noch der nicht identifizierte Peak einer leichtflüchtigen Substanz, die offensichtlich in grösserer Menge als Maltol oder 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on vorliegt.

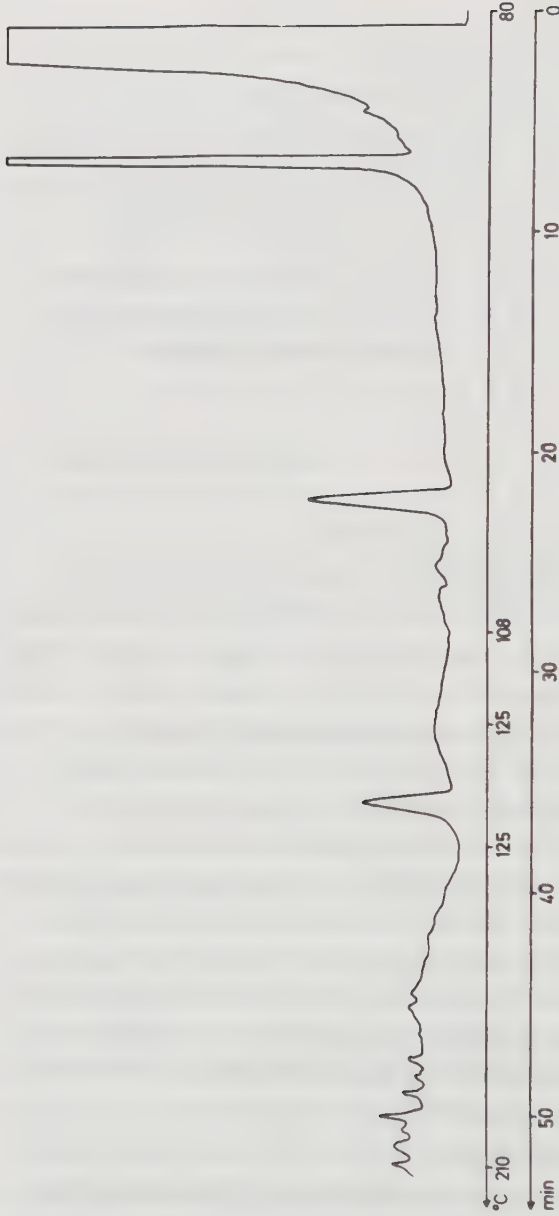
Untersuchung von bitterer Schokolade

Das Conchieren im Herstellungsprozess von Schokoladen spielt bekanntermassen bei der Geruchs- und Geschmacksbildung des Fertigproduktes eine ausschlaggebende Rolle. Beim Conchieren werden die bereits vorher innig vermischten Ausgangsprodukte der Schokoladenherstellung, nämlich Kakaomasse, Zucker, Milchpulver in den sogenannten Conchen je nach gewünschter Qualität 24 bis 75 Stunden bei 70°C verrieben. Bei dieser Behandlung der Schokoladenmasse wird der Wassergehalt gesenkt, unerwünschte Geruchs- und Geschmacksträger verflüchtigen sich, wertvolle Aromastoffe werden fixiert und verbessert oder entstehen zusätzlich. Es ist bisher nicht geklärt, welche chemischen Umsetzungen, z.B. Oxidationen der Gerbstoffe unter Lufteinfluss, Karamellisierung der Saccharose durch örtliche Überhitzung an der Reibungsgrenzfläche, usw. ablaufen. Gerade bei der Herstellung von Milkschokolade bedarf aber der Conchierprozess besonderer Sorgfalt, da hier Maillard-Reaktionen zwischen der Lactose und dem Milcheiweiss möglich sind.

Ich versuchte, ob es möglich ist, mit dem von mir entwickelten Analysenverfahren in einem so komplex zusammengesetzten Untersuchungsmaterial wie Schokolade, Auskunft über wesentliche Substanzen zu erhalten, die u.U. im Conchierprozess entstehen.

4 2

5



2 Maltol

4 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd

5 2, 3-Dihydro-3, 5-dihydroxy-6-methoxy-4H-pyran-4-on

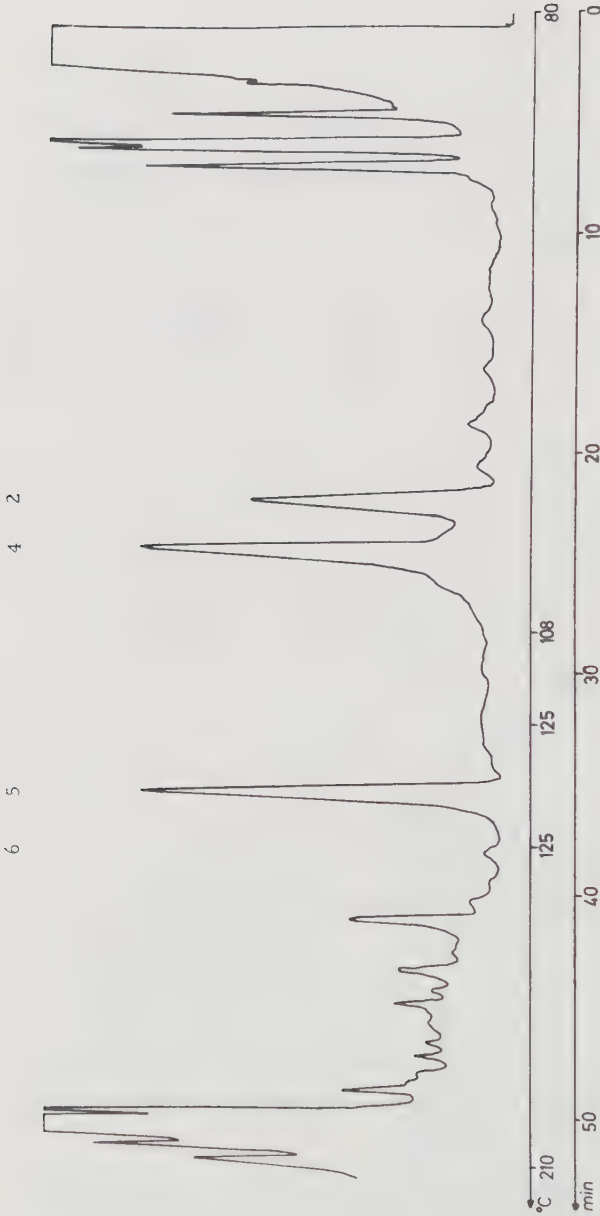
Abbildung 26

Handelsübliche, bittere Schokolade wurde in heissem Wasser aufgeschlämmt und das Gemisch mit Essigsäureäthylester extrahiert. Der vom Lösungsmittel befreite Rückstand der Essigsäureäthylesterextraktion enthielt zum grössten Teil Fett, das durch Ausschütteln mit Acetonitril/Petroläther nahezu quantitativ in die Petrolätherphase überführt werden konnte, während beim Einengen der Acetonitrilphase ein braunes Pulver zurückblieb. Dieses Pulver löste ich in Pyridin und unterwarf die Inhaltsstoffe nach Silylierung einer Trennung. Abbildung 27 zeigt das Gaschromatogramm mit einer grossen Anzahl von Peaks.

2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on (ca. 0,003%), 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd (ca. 0,003%) und Maltol (ca. 0,003%) treten in grösseren Mengen auf, daneben konnte noch eine geringe Menge (ca. 0,0001%) 3,5-Dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on identifiziert werden. 2-Hydroxyacetylfuran liegt in ausserordentlich geringer und nicht mehr messbarer Menge vor, während Isomaltol nicht nachweisbar ist (Prozentzahlen bezogen auf die eingesetzte Menge Schokolade).

Untersuchungen über die Aromastoffe in Kakao und Schokolade wurden erstmals von Bainbridge und Davies (52) veröffentlicht; in jüngerer Zeit verhalf besonders die Gaschromatographie Autoren wie W. Mohr (100), S.D. Bailey und Mitarbeiter (101) und vor allem van Elzakker (102) zu eingehenden Kenntnissen über viele flüchtige Schokoladenaromastoffe. P. Dietrich und Mitarbeiter (103) veröffentlichten eine lange und systematische Studie über flüchtige Bestandteile des Schokoladenaromas, wobei sie 43 bereits bekannt und 29 neugefundene Substanzen anführten. Die Gesamtzahl aller bisher bekannten Komponenten des Schokoladenaromas beläuft sich auf über 200. T.A. Rohan (53) hat in einer umfangreichen Veröffentlichung das bisherige Wissen über die Zusammensetzung des Schokoladenaromas zusammengefasst.

In allen obengenannten Veröffentlichungen wird über das Vorkommen von Maltol berichtet, jedoch nicht über die anderen, in der vorliegenden Arbeit qualitativ und quantitativ bestimmten Inhaltsstoffe.



2 Maltol

4 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd

5 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on

6 3,5-Dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on

Abbildung 27

In Tabelle J sind die Ergebnisse meiner Untersuchungen über den Gehalt an Maltol, Isomaltol, 2-Hydroxyacetyluran, 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd, 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on in verschiedenen Lebensmitteln zusammengefasst.

Untersuchte Nahrungsmittel	Verbindung im Extraktionsrückstand(mg)						
	Extraktionsrückstand (g)	3,5-Dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on	2,3-Dihydro-3,5-Dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on	Maltol	5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd	2-Hydroxyacetyluran	Isomaltol
Biermalz (dunkel)	0,9	0	30	2	0	0,4	0
Starkbier	0,9	0	3	150	1,3	0	2,6
Brotrinde	2,3	0	33	60	1	0	0
Karamell-Bonbon	0,7	3	60	2	55	1	0
Schokolade	0,4	0,3	30	24	30	0	0
gebr Mandeln	0,03	0,3	0,5	0,2	15	0,02	0
Malzextrakt	0,6	1,5	2	12	0,6	0	0

Tabelle J

ZUSAMMENFASSUNG

Beim Erhitzen von Lebensmitteln laufen u.a. chemische Umwandlungen ab, die unter dem Überbegriff Maillard-Reaktionen zusammengefasst werden; dabei entstehen braune Pigmente, die sogenannten Melanoidine. Diese Umsetzungen zwischen reduzierenden Zuckern und Aminosäuren bzw. Eiweisstoffen treten bereits bei Temperaturen unter 100°C ein, verlaufen aber nicht einheitlich, so dass es nicht möglich ist, ein allgemein gültiges Reaktionsschema aufzustellen. In Zwischenstufen entstehen aber - wie experimentell nachgewiesen wurde - stickstoffhaltige Verbindungen mit der Struktur Schiff'scher Basen. Im weiteren Reaktionsablauf kann der stickstoffhaltige Rest wieder abgespalten werden, wodurch sehr reaktionsfähige Dicarbonylverbindungen entstehen, die zu niedermolekularen Verbindungen führen oder aber zu hochmolekularen Gebilden kondensieren. Neben den Maillard-Reaktionen können bei höheren Temperaturen, wie sie beim Backen oder Rösten auftreten, thermische Zuckerabbaureaktionen in Abwesenheit eines Aminkatalysators ablaufen; trotzdem können dieselben Endprodukte wie bei den aminosäurekatalysierten Maillard-Reaktionen auftreten.

Ziel dieser Arbeit war es, 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on, das erst in jüngster Zeit von Th. Severin und W. Seilmeier als Zuckerabbauprodukt isoliert wurde, neben den bekannten Verbindungen Maltol, Isomaltol, 2-Hydroxyacetylfuran und 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd in Gemischen von Modellreaktionen sowie in Nahrungsmitteln qualitativ und annäherungsweise quantitativ zu erfassen. Voraussetzung dafür war die Entwicklung eines einfach zu handhabenden Analysenganges. Wie sich bei der Durchführung der Versuchsreihen gezeigt hat, weist folgendes Analysenverfahren eine hohe Selektivität und praktisch keine Störanfälligkeit auf:

Das Analysenmaterial wird mit Essigsäureäthylester extrahiert und die so abgetrennten Bestandteile in Pyridin gelöst und silyliert. Die Auftrennung der Trimethylsilylderivate von Zuckerumwandlungsprodukten sowie auch von einigen nicht derivatisierten leichtflüchtigen Zuckerumwandlungsprodukten erfolgt gaschromatographisch auf einer mit Phenylsilicongummi beschichteten Säule.

Mit diesem Verfahren war es in allen Fällen möglich, eine gute Auftrennung der genannten Substanzen zu erreichen. Es konnte so gezeigt werden, in welcher Menge die von mir untersuchten Heterozyklen beim Rösten von Glucose, Fructose, Saccharose, Maltose sowie bei der Umsetzung dieser Zucker mit Ammoniumacetat bzw. Aminosäuren oder Casein gebildet werden.

Das mit dieser Arbeit entwickelte Analysenverfahren bewährte sich bei der Untersuchung verschiedener Lebensmittel. Im einzelnen wurden die Zuckerumwandlungsprodukte in dunklem Biermalz, Starkbier, Brotrinde, Karamelbonbons, bitterer Schokolade, gebrannten Mandeln und in Malzextrakt untersucht.

Das Auftreten einer Anzahl nichtidentifizierter Peaks in den Gaschromatogrammen weist auf weitere Zuckerumwandlungsprodukte hin, die als Gegenstand weiterer Untersuchungen von Interesse sein können.

Literaturverzeichnis

- 1) L.C. Maillard, C.r.d.l'Acad. des sciences 154, 66 (1912)
- 2) G.P. Ellis, Advances Carbohydrate Chem. 14, 63 (1959)
- 3) L.J. Schroeder u. Mitarb., J. biol. Chemistry, 212, 973 (1955)
- 4) T.M. Reynolds, Advances Food Res. 12, 1 (1963)
- 5) T.M. Reynolds, Advances Food Res. 14, 167 (1965)
- 6) J.E. Hodge, Avi Publishing Co, Westport-Conn. S.465 (1967)
- 7) J.S. Fagerson, Agriculture and Food Chemistry, 747 Vol 17, NO 4 (1969)
- 8) K. Heyns, R. Stuk, H. Paulsen, Carbohydrate Res. 2, 132 (1966)
- 9) C. Enders, Me.G. 312 (1942)
- 10) C.O. Chicester, F.H. Stadtman u. G. Mackinney, J. Am. Chem. Sec. 74, 3418 (1952)
- 11) M.L. Wolfrom, C.S. Rooney, J. Am. Chem. Sec. 75, 5435 (1953)
- 12) H. Kato, Bull. Agr. Chem. Sec. Japan 20, 273 (1956)
- 13) W. Diemaier u. E. Jury, Z. L. U. 127, 249 (1965)
- 14) H.H. Beachmann u. M.F. Dull, Food. Res. 16, 439 (1951)
- 15) C. Enders, Biochem. Z. 312, 339 (1942)
- 16) T.M. Reynolds, Advances Food Res. 12, 39 (1963)
- 17) H.D. Cremer und E. Menden, Z. L. U. 104, 33 (1956)
- 18) U. Krönig, Dissertation, München (1974)
- 19) A. Trillat, Compt. Rend. 141, 215-217 (1905)
- 20) A. Trillat, Bull. Assoc. Chim. Sucr. 23, 149-652; Z. Ver. Rübenzucker Ind. 1906, 95103
- 21) A. Trillat, Bull. Assoc. Chim. Sucr. 23, 652-655 (1905)
- 22) A. Trillat, Compt. Rend 142, 454-456 (1906)
- 23) G. Klein, Biochem. Z. 169, 132-138 (1926)
- 24) E. Mariani und G. Torracca, Intern. Sugar J. 53, 309 (1953)
- 25) H. Rückert, E. Pfeil und G. Scharf, Chem. Ber. 98, 2558 (1965)
- 26) N.A. Ramaiah, S.K.D. Agarwal und M.B. Kumar, Proc. Intern. Soc. Sugar-Cane Technologists 11, 932-940 (1962)

- 27) D.J. Boyce, C.T. Greenwood, "Die Stärke" 15, 285-290 (1963)
- 28) K. Heyns, R. Hauber, Liebig's Ann.Chem. 733, 159-169 (1970)
- 29) H. Sugisawa, K. Edo, Chemistry and Industry, 23, 892 (1964)
- 30) Qua und J.S. Fagerson, "Evolution of Volatiles from Heated Corn Hydrolyzates" 24. Annual Meeting, Institute of Food Technologists Washington D.C., May 24-28 (1964)
- 31) C.T. Greenwood, J.H. Knox, E. Milne, Chem.Industry 1878 (1961)
- 32) D.J. Bryce, C.T. Greenwood, Stärke 15, 158, (1963)
- 33) D. Bollmann, S. Schmidt-Berg, Z. Zuckerind. 15, 4, 179-184;
Nr. 5, 159-165 (1965)
- 34) H. Lukesch, Naturwissenschaften 43, 108-109, (1956)
- 35) T. Reichstein, H. Beitter, Ber. 63, 816-826 (1930)
- 36) M.A. Gianturco, A.S. Giammarino, P. Friedel, V. Flanagan, Tetrahedron 20, 1951-1961 (1964)
- 37) H. Sugisawa, K. Sudo, Can.Inst.Food.Technol.J. Vol 2, Nr. 2
94-97 (1969)
- 38) F. Weygand, Ber.dtsch.chem.Ges. 73, 1259 (1940)
- 39) R. Kuhn, F. Weygand, Ber.dtsch.chem.Ges. 70, 769 (1937)
- 40) K. Heyns, K.H. Eichstedt, K.H. Meinecke, Chem.Ber. 88, 1551 (1955)
- 41) J.E. Hodge, Agr.Food Chem. 1, 928-943 (1953)
- 42) H. Simon, Ber. 95, 1003-1008 (1962)
- 43) J.E. Hodge, B.E. Fisher, E.C. Nelson, Am.Soc.Brewing Chemists.
Proc. 84-92 (1963)
- 44) H. Simon und G. Heubach, Chem.Ber. 98, 3703-3711 (1965)
- 45) W. Diemar und H. Hala, Z.L.U.-Forsch. 110, 161-168 (1959)
- 46) S. Patton, J.Biol.Chem. 184, 131-134 (1950)
- 47) G. Machell, G.N. Richards, J.Chem.Soc. 1960, 1924
- 48) J.U. Nef, Liebig's Ann.Chem. 376/1 (1910)
- 49) A. Schönberg, R. Moubacher und A. Mostafa, J.Chem.Soc. 1948,
176-182 (1948)
- 50) J.S. Cole, J.of Food Science Vol. 32, 245 (1967)
- 51) H. Streuli, Aroma und Geschmacksstoff in Lebensmitteln, Forster-
Verlag AG. Zürich (1967)
- 52) J.S. Bainbridge, S.H. Davies, J.Chem.Soc. 2209

- 53) T.A. Rohan, Food Processing and Marketing Jan. 1969 S. 12-17
- 54) B. van der Wal, J.Agr.Food Chem. Vol. 19, Nr. 2, 276-280 (1971)
- 55) M.A. Gianturco, A.S. Giammarino, R.G. Pitcher, Tetrahedron 19, 2052-2059 (1963)
- 56) R.H. Walter, J.S. Fagerson, J. of Food Science 33, 294 (1968)
- 57) P.E. Shaw, J.H. Tatum, R.E. Berry, Carbohydr.Res. 5, 266-273 (1967)
- 58) P.E. Shaw, J.H. Tatum, R.E. Berry, J.Agr.Food Chem. Vol. 16, Nr.6 Nov.-Dez. 1968, 979
- 59) G.R. Jurch, J.H. Tatum, Carbohydr.Res. 15, 233-239 (1970)
- 60) W. Seilmeier, Dissertation, München 1968
- 61) Th. Severin und W. Seilmeier, Studien zur Maillard-Reaktion II. Z.L.U. 134, 230 (1967)
- 62) Th. Severin und W. Seilmeier, Studien zur Maillard-Reaktion III. Z.L.U. 137, 1. Heft, 4-6 (1968)
- 63) J.E. Hodge und B.E. Fisher, Struktur vom Hexoseprodukt
- 64) C.M. Colleyer, Baker's Digest, 38, 43-46, 48, 50-54 (1964)
- 66) H.S. Isbell, J.Res.nat.Bur.Standards 32, 45 (1944) ref. 276
- 67) E.F.L.J. Anet, Austral.J.Chem. 13, 396 (1960)
- 68) E.F.L.J. Anet, Advances Carbohydr.Chem. 19, 181 (1964)
- 69) E.F.L.J. Anet, Austral.J.Chem. 15, 503 (1962)
- 70) L.T. Kovats, A. Rajhy, Nahrung, 2, 893 (1958)
- 71) A. Backe, Compt.Rend 150, 540-543; 151, 78-80 (1910)
- 72) J.E. Hodge und E.C. Nelson, Cereal Chem. 38, 207-221 (1961)
- 73) B.E. Fisher und J.E. Hodge, J.Org.Chem. 29, 776-781 (1964)
- 74) J.C. Baker, H.K. Parker, K.C. Fortman, Cereal Chem. 30, 22-30 (1953)
- 75) L. Wiseblatt, North-West Miller 250, Nr. 11, 1a, 16a - 17a (1957)
- 76) L. Wiseblatt, F.E. Kohn, Cereal Chem. 37, 55-56 (1960)
- 77) E. Wich, M. de Figueiredo, D.H. Wallace, Cereal Chem. 41, 300 - 315 (1964)
- 78) H. Beitter, Maltol, Ber. Getreidechemiker-Tagung 69-75, Brot, Gebäck 17, Nr. 7, 132-134 (1963)
- 79) H. Bohnsack, Körperpflegemittel 14, 33-34 (1964)
- 80) P. Dietrich und Mitarbeiter, Helv.Chim.Acta 47, 1581-1590 (1964)

- 81) W. Diemar und H. Hala, Z.L.U.-Forsch. 110, 161-168 (1959)
- 82) Anon, 1962 A/B Oil Paint Drug Reptr. 181 Nr. 3, 7, 52, 19 (1962)
- 83) S. Patton, J.biol.Chemistry, 184, 131 (1950)
- 84) M. Makita und W.W. Wells, Anal. Biochem. 5 (1963) 523
- 85) F.A. Henglein und K. Scheinkost, Makromol.Chem. 21 (1956) 59
- 86) R. Schwarz, E. Baronetzky, K. Schöller, Angew.Chemie 68 (1956)
- 87) R. Bentley, C.C. Sweeley, M. Makita, W.W. Wells, Biochem. Biophys.Res.Commen 11 (1963) 14
- 88) C.C. Sweeley, R. Bentley, M. Makita, W.W. Wells, J.Ann.Chem. Soc. 85 (1963) 2497
- 89) K. Aso und H. Sugisawa, Tohoku J.Agr.Res. 5, 143 (1954)
- 90) K. Aso und H. Sugisawa, Agr.Chem.Soc. Japan 10, 1201-3 (1934)
- 91) T. Ischki, Z.Physiolog.Chemie 216, 130-2 (1933)
- 92) O. Terada, S. Suzuki, S. Kinoshita, Nippon Nogei-Kagaku Kaishi 36 (1962) 623
- 93) Th. Severin und B. Heidenhain, Z.L.U. 132, 65 (1966)
- 94) K.H. Bräutigam, Dissertation München 1973
- 95) U. Krönig, Dissertation München 1974
- 96) H. Shigematsu, T. Kurata, H. Kato, M. Fujimaki, Agr.Biol.Chem. Vol. 36 Nr. 9 p. 1631-1637 (1972)
- 98) A. Ferretti, V.P. Flanagan, J.M. Ruth, J.Agr.Food Chem. Vol. 18, Nr. 1 (1970) 13-18
- 99) A. Ferretti, V.P. Flanagan, J.Agr.Food Chem. Vol. 19, Nr.2 (1971) 245-249
- 100) W. Mohr, Fette, Seifen, Anstrichmittel 60, 661 (1958)
- 101) S.D. Bailey, D.G. Mitchell, M.J. Bazinet, C. Weurmann, J.Food Sci. 27, 16 (1962)
- 102) A.H.M. von Elzakker und H.S. van Znipphen, Z.L.U. u.Forsch. 115, 222 (1961)
- 103) P. Dietrich und Mitarbeiter, Helv.Chim.Acta 47, 1581 (1964)
- 104) Nach Abschluss dieser Untersuchungen erschien eine Publikation von R. Tressl, T.Kossa, R. Renner über die Inhaltstoffe in Bier (Monatszeitschrift für Brauerei 27, 98-102 (Mai 1974))

EXPERIMENTELLER TEIL

1. Gaschromatographische Trennung von 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd, 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on, 2-Hydroxyacetyl-furan, Maltol, Isomaltol auf QF1

- I. 1,8 mg 2-Hydroxyacetylfuran, 2,3 mg Isomaltol, 3,0 mg 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-4H-pyran-4-on, 23,5 mg 5-Hydroxy-methyl-2-furaldehyd und 3,5 mg Maltol werden in 230 mg Pyridin gelöst. Zu der Lösung fügt man 110 mg 1.1.1.3.3.3-Hexamethyldisilazan und 88 mg Trimethyl-chlorsilan und schüttelt das Gemisch 30 Sekunden. Das ausfallende Pyridiniumchlorid setzt sich ab oder wird besser durch Zentrifugieren von der überstehenden klaren Lösung abgetrennt; man kann diese Lösung direkt in den Gaschromatographen einspritzen.

II. Gerät: Varian Aerograph Series 1400

Säule 5% QF1 auf Chromosorb W, 60/80 mesh

Länge 2,5 mtr, Durchmesser 1/8"

Injektor 190°C Detektor 250°C

Bereich 10 - 12 Abschwächer 4

Temperatur 110°C isotherm

He: 30 ml/min. H₂: 25 ml/min.

Vorschub: 30 inches/h

Einspritzmenge: 1,0 μ ltr.

Gaschromatogramm siehe Abbildung 1.

III. Retentionszeiten:

(1) Isomaltol	54 min 50 sec.
(2) Maltol	28 min 34 sec.
(3) 2-Hydroxyacetylfuran	47 min
(4) 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd	63 min 50 sec.
(5) 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on	36 min 42 sec.

2. Gaschromatographische Trennung von 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd, 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on, 2-Hydroxyacetylfuran, Maltol, Isomaltol und 3,5-Dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on auf SE 52

- I. 0,72 mg Isomaltol, 0,83 mg 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on, 0,54 mg 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd, 0,59 mg Maltol, 0,41 mg 2-Hydroxyacetylfuran und 1,32 mg 3,5-Dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on löst man in 186 mg Pyridin. Zu der Lösung werden 35 mg 1.1.1.3.3.3.-Hexamethyldisilazan und 14 mg Trimethylchorsilan gegeben; das Gemisch schüttelt man 30 Sekunden. Das ausfallende NH_4Cl setzt sich ab oder wird besser durch Zentrifugieren abgetrennt. Die klare Lösung wird in den Gaschromatographen eingespritzt.

II. Säule: 5% SE 52 auf Chromosorb W 60/80 mesh

Länge 2,5 mtr., Durchmesser $1/8''$

Injektor 210°C Detektor 250°C

Bereich 10^{-10} Abschwächer 2

Temperaturprogramm:

von 80°C - 108°C $1^\circ\text{C}/\text{min.}$, von 108°C - 125°C $4^\circ\text{C}/\text{min.}$

bei 125°C $5'30''$ isotherm, dann von 125°C - 210°C $6^\circ\text{C}/\text{min.}$

He: 30 ml/min. H_2 : 25 ml/min. Schreiber-Vorschub 30 inch/h

Einspritzmenge: 1,0 ltr.

Gaschromatogramm siehe Abbildung 2.

III. Retentionszeiten:

(1) <u>Isomaltol</u>	19 min
(2) <u>Maltol</u>	21 min 50 sec.
(3) <u>2-Hydroxyacetylfuran</u>	22 min 30 sec.
(4) <u>5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd</u>	24 min 12 sec.
(5) <u>2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on</u>	35 min 12 sec.
(6) <u>3,5-Dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on</u>	38 min 12 sec.

3. Karamellisierung von Saccharose und Untersuchung der Reaktionsprodukte

I. 250 g Saccharose werden in einer offenen Porzellanschale 10 Minuten auf 180°C bis 185°C erhitzt; die entstehende Schmelze hält man 20 Minuten bei dieser Temperatur und löst sie dann in Wasser auf. Die wässrige Lösung extrahiert man ca. 3 Stunden im Perforator mit Essigsäureäthylester, trocknet die Essigsäureäthylesterphase mit Na_2SO_4 und engt dann im Rotationsverdampfer ein. Das zurückbleibende braune Öl (1763 mg) wird silyliert und zur gaschromatographischen Trennung eingesetzt.

II. 76 mg Extraktionsrückstand löst man in 425 mg Pyridin und versetzt mit 180 mg 1.1.1.3.3.3.-Hexamethyldisilazan und 95 mg Trimethylchlorsilan. Das Gemisch wird, wie unter 2.I. beschrieben, weiterbehandelt und zur gaschromatographischen Trennung eingesetzt.

III. Gaschromatographische Bedingungen wie unter 2II. beschrieben.

IV. Einspritzmenge: 1,0  ltr.

Gaschromatogramm siehe Abbildung 3.

4. Karamellisierung von Glucose und Untersuchung der Reaktionsprodukte

I. Man erhitzt 250 g Glucose innerhalb 15 Minuten auf 170°C wie unter 3.I. beschrieben und hält die Endtemperatur weitere 15 Minuten. Der Schmelzkuchen wird, wie unter 3.I. beschrieben, behandelt.
Extraktionsrückstand: 490.6 mg.

II. 70 mg des Extraktionsrückstandes werden in 500 mg Pyridin gelöst und mit 185 mg 1.1.1.3.3.3.-Hexamethyldisilazan und 77 mg Trimethylchorsilan versetzt. Das Gemisch schüttelt man 30 Sekunden und trennt die klare Lösung vom ausfallenden NH_4Cl .

III. Gaschromatographische Bedingungen wie unter 2.II. beschrieben, Abschwächer 2.

IV. Einspritzmenge: 1,0 μltr .

Gaschromatogramm siehe Abbildung 4.

5. Isolierung Difurfural-2-methyl-äther, $\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{O}_5$, (12)

1,1 g des Rückstandes nach 4.I. werden einer Vakuumdestillation bei 0,01 Torr unterzogen. Bei 95°C geht 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on in die Brücke über; nach 90 Minuten wird die Vorlage gewechselt und die Temperatur auf 150°C erhöht; innerhalb von 45 Minuten destilliert ein dickflüssiges, öliges Substanzgemisch (112 mg).

Die Abtrennung der Mischung erfolgt dünnschichtchromatographisch auf einer Kieselgelplatte mit Fluoreszenzindikator mit dem Laufmittel Benzol/Äthanol/Essigester im Verhältnis 4:2:1. Die Laufzeit beträgt 150 Minuten. Im DC werden 5 Zonen A ($f = 0,82$), B ($f = 0,7$), C ($f = 0,35$), D ($f = \text{ca. } 0,25$), E ($f = 0,13$) aufgetrennt. 4 Substanzen sind durch Fluoreszenzlöschung in UV-Licht ($\lambda = 254 \text{ m}\mu$) zu erkennen. Jede Zone wird abgetrennt, mit Essigsäureäthylester eluiert und das Lösungsmittel im Vakuum verdampft. Auf diese Weise kann aus den Zonen B, C, D und E jeweils ein farbloses Öl isoliert werden - die Mengen liegen zwischen 3 und 8 mg. Die Substanz aus Zone A ist ein hellgelber, kristalliner Festkörper (10 mg). Alle Verbindungen können nicht gaschromatographisch, wie unter 2 beschrieben, erfasst werden.

Die hellgelbe, kristalline Substanz (12) der Zone A schmilzt nach zweimaligem Umkristallisieren aus Essigsäureäthylester bei $107 - 108^{\circ}\text{C}$.

Ausbeute: 0,002% bezogen auf Glucose

Summenformel (MG 234) $\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{O}_5$

IR-Spektrum (KBr)

3105 cm^{-1} , 2415 cm^{-1} , 2325 cm^{-1} , 1740 cm^{-1}

H-NMR-Spektrum

(CDCl_3)

$\tau = 7,76$ (s 4H)

$\tau = 3,42$ (d 2H J = 3Hz)

(TMS als innerer Standard)

$\tau = 2,69$ (d 2H J = 3Hz)

$\tau = 0,75$ (s 2H)

MS (70 eV): m/e = 234 (9% M^+), 233 (18%), 205 (74%), 225 (27%),
110 (78%), 109 (100%), 95 (55%), 82 (74%),
81 (87%), 53 (78%), 41 (40%), 39 (60%).

6. Karamellisierung von Fructose und Untersuchung der Reaktionsprodukte

- I. 250 g Fructose werden in einer Porzellanschale innerhalb 30 Minuten bis 170°C erhitzt und 10 Minuten bei dieser Temperatur gehalten. Der Schmelzkuchen wird aufgearbeitet, wie unter 3.I. beschrieben. Extraktionsrückstand 1200 mg.

- II. 60 mg des Extraktionsrückstandes löst man in 440 mg Pyridin und versetzt mit 174 mg 1.1.1.3.3.3.-Hexamethyldisilazan und 76 mg Trimethylchlorsilan. Das Gemisch wird 30 Sekunden geschüttelt und die klare Lösung vom ausgefallenen NH_4Cl getrennt.

- III. Gaschromatographische Bedingungen, wie unter 2.II. beschrieben, Abschwächer 2.

Einspritzmenge: 1,0 μ ltr.

Gaschromatogramm siehe Abbildung 5

7. Karamellisierung von Maltose und Untersuchung der Reaktionsprodukte

- I. 250 g Maltose erhitzt man innerhalb von 35 Minuten auf 160°C, der Schmelzkuchen wird sofort, wie unter 3.I. beschrieben, in Wasser aufgenommen und extrahiert.

Extraktionsrückstand: 2,53 g (= 1%).

- II. 70 mg vom Extraktionsrückstand löst man in 502 mg Pyridin und silyliert mit 182 mg 1.1.1.3.3.3.-Hexamethyldisilazan und 99 mg Trimethylchlorsilan. Das Gemisch wird, wie unter 2.I. beschrieben, weiterbehandelt und gaschromatographisch getrennt.

- III. Gaschromatographische Bedingungen, wie unter 2.II. beschrieben, Abschwächer 2.

Einspritzmenge: 1,0 μ ltr.

Gaschromatogramm siehe Abbildung 6.

8. Karamellisierung von Lactose und Untersuchung der Reaktionsprodukte

- I. 250 g Lactose werden innerhalb 15 Minuten auf 180°C erhitzt und weitere 15 Minuten bei dieser Temperatur gehalten. Den Schmelzkuchen arbeitet man, wie unter 3.I. beschrieben, auf.

Extraktionsrückstand: 0,6 g (= ca. 0,26%).

- II. 70 mg vom Extraktionsrückstand werden in 460 mg Pyridin gelöst und mit 190 mg 1.1.1.3.3.3.-Hexamethyldisilazan und 90 mg Trimethylchlorsilan silyliert, wie unter 3.I. beschrieben.
- III. Gaschromatographische Bedingungen, entsprechend 2.II., Abschwächer 2.
Einspritzmenge: 1,0 μ ltr.
Gaschromatogramm siehe Abbildung 8.
9. Umsetzung von Glucose mit (CH_3NH_4) Ac im Mol.-Verhältnis 1,5:1
- I. 1,5 Mol. Glucose erhitzt man mit 1 Mol. Methylammoniumacetat Ac in einer offenen Porzellanschale innerhalb von 40 Minuten bis 153°C . Die Reaktionsprodukte behandelt man, wie unter 3.I. beschrieben, weiter.
Extraktionsrückstand: 11,4 g.
- II. 65 mg Extraktionsrückstand werden in 460 mg Pyridin gelöst und mit 186 mg 1.1.1.3.3.3.-Hexamethyldisilazan und 88 mg Trimethylchlorsilan gemäss 3.I. silyliert und zur gaschromatographischen Trennung vorbereitet.
- III. Gaschromatographische Bedingungen, wie unter 2.II. beschrieben, Abschwächer 2.
Einspritzmenge: 0,2 μ ltr.
Gaschromatogramm siehe Abbildung 9.

10. Umsetzung von Glucose mit $(\text{CH}_3\text{NH}_4)^+\text{Ac}^-$ im Mol.-Verhältnis 6 : 1

- I. 6 Mol. Glucose erhitzt man mit 1 Mol. $(\text{CH}_3\text{NH}_4)^+\text{Ac}^-$ in einer offenen Porzellanschale bis 185°C . Die Aufarbeitung der Reaktionsprodukte erfolgt nach 3.I.

Extraktionsrückstand: 9,7 g.

- II. 70 mg Extraktionsrückstand löst man in 600 mg Pyridin und silyliert mit 145 mg 1.1.1.3.3.3.-Hexamethyldisilazan und 10 mg Trimethyl-chlorsilan. Das Reaktionsgemisch wird nach 2.I. weiterbehandelt und schliesslich gaschromatographisch getrennt.

- III. Gaschromatographische Bedingungen, wie unter 2.II. beschrieben, Abschwächer 2.

Einspritzmenge: 0,2 μltr .

Gaschromatogramm siehe Abbildung 10.

11. Isolierung von 3,5-Dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on, $\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_4$, (6)

Das bei der Umsetzung von Glucose mit $(\text{CH}_3\text{NH}_4)^+\text{Ac}^-$ im Mol.-Verhältnis 1,5 : 1 durch Essigesterextraktion gewonnene Öl wird einer Vakuumdestillation bei 0,1 Torr und 93°C bis 128°C unterworfen. In der Brücke der Destillationsapparatur scheiden sich farblose Kristalle ab. Die Substanz kristallisiert man zweimal aus Essigester um.

Ausbeute 0,2%, bezogen auf Glucose

Schmp. 177° (unter Zersetzung)

$\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_4$ (142)

IR (Fenster): $3100\text{ cm}^{-1}(\text{OH})$, $1650\text{ cm}^{-1}(\text{CO})$, $1600\text{ cm}^{-1}(\text{C}=\text{C})$

H-NMR (CD_3OD) TMS: $\tau = 7,63$

$\tau = 2,05$

MS: (70eV): m/e = 142 (100% M^+), 113 (9,5%), 96 (8%), 85 (15%), 71 (17%)
68 (32%), 67 (12%), 57 (12%), 55 (21%), 43 (44%),
42 (13%), 41 (14%).

12. Umsetzung von Saccharose mit $(CH_3NH_4)^+ Ac^-$ im Mol.-Verhältnis 3 : 1
- I. 3 Mol. Saccharose werden mit 1 Mol. $(CH_3NH_4)^+ Ac^-$ in einer Porzellanschale auf 155° C innerhalb von 30 Minuten erhitzt und der entstehende Schmelzkuchen sofort wieder abgekühlt. Die Reaktionsprodukte behandelt man nach 3.I.
Extraktionsrückstand: 4,48 g (1,79%).
- II. 43 mg Extraktionsrückstand werden in 440 mg Pyridin gelöst und mit 130 mg 1.1.1.3.3.3.-Hexamethyldisilazan und 75 mg Trimethylchlorsilan silyliert. Das Gemisch wird, wie unter 2.I. beschrieben, weiterbehandelt und zur gaschromatographischen Trennung eingesetzt.
- III. Gaschromatographische Bedingungen, wie unter 2.II. beschrieben, Abschwächer 2.
Einspritzmenge: 0,7 μ ltr.
Gaschromatogramm siehe Abbildung 11.
13. Umsetzung von Maltose mit $(CH_3NH_4)^+ Ac^-$ im Mol.-Verhältnis 3 : 1
- I. Ein Gemisch von 3 Mol. Maltose und 1 Mol. $(CH_3NH_4)^+ Ac^-$ wird innerhalb von 20 Minuten auf 156° erhitzt und weitere 5 Minuten bei dieser Temperatur gehalten. Der Schmelzkuchen wird, wie unter 3.I., weiterbehandelt.
Extraktionsrückstand: 6 g (= ca. 2,4%).

- II. 38 mg Extraktionsrückstand werden in 370 mg Pyridin gelöst und mit 115 mg 1.1.1.3.3.3.-Hexamethyldisilazan und 50 mg Trimethylchlorsilan nach 2.I. silyliert.
- III. Gaschromatographische Bedingungen wie unter 2.II. beschrieben, Abschwächer 2.
Einspritzmenge: 0,5 μ ltr.
Gaschromatogramm siehe Abbildung 12.
14. Umsetzung von Lactose mit $(\text{CH}_3\text{NH}_4)^+\text{Ac}^-$ im Mol.-Verhältnis 3 : 1
- I. Lactose erhitzt man im Mol.-Verhältnis 3 : 1 mit $(\text{CH}_3\text{NH}_4)^+\text{Ac}^-$ in einer offenen Porzellanschale innerhalb von 35 Minuten bis 154°C . Die Reaktionsprodukte werden extrahiert, wie unter 3.I. beschrieben. Extraktionsrückstand: 7,6 g (= Ca. 3%).
- II. Man löst 38 mg des Extraktionsrückstandes in 350 mg Pyridin und silyliert mit 130 mg 1.1.1.3.3.3.-Hexamethyldisilazan und 60 mg Trimethylchlorsilan. Die vom ausgefallenen NH_4Cl abgetrennte klare Lösung wird in den Gaschromatographen eingespritzt.
- III. Gaschromatographische Bedingungen wie unter 2.II. beschrieben, Abschwächer 2.
Einspritzmenge: 0,7 μ ltr.
Gaschromatogramm siehe Abbildung 13.
15. Umsetzung von Glucose mit DL-Alanin im Mol.-Verhältnis 60 : 1
- I. Glucose und Alanin im Mol.-Verhältnis 60 : 1 werden in einer offenen Porzellanschale innerhalb von 28 Minuten auf 175°C erhitzt. Die

Reaktionsprodukte extrahiert man mit Essigsäureäthylester und gewinnt dabei ca. 3 g (= ca. 1,2%) eines zähen, schwarzen Öls.

- II. 60 mg des Extraktionsrückstandes löst man in 445 mg Pyridin und silyliert mit 138 mg 1.1.1.3.3.3.-Hexamethyldisilazan und 76 mg Trimethylchlorsilan nach 2.I.
- III. Gaschromatographische Bedingungen wie unter 2.II. beschrieben, Abschwächer 2.
Einspritzmenge: 0,5 μ ltr.
Gaschromatogramm siehe Abbildung 15.

16. Umsetzung von Glucose mit DL-Alanin im Mol.-Verhältnis 6 : 1

- I. Man erhitzt in einer offenen Porzellanschale Glucose und Alanin im Mol.-Verhältnis 6 : 1 in 30 Minuten auf 165°C. Das Reaktionsgemisch wird sofort in Wasser aufgenommen und mit Essigsäureäthylester ausgezogen.
Extraktionsrückstand: 3,7 g (= ca. 1,5%).
- II. 45 mg Extraktionsrückstand löst man in 450 mg Pyridin und silyliert mit 115 mg 1.1.1.3.3.3.-Hexamethyldisilazan und 60 mg Trimethylchlorsilan.
- III. Gaschromatographische Bedingungen wie unter 2.II. beschrieben, Abschwächer 2.
Einspritzmenge: 0,4 μ ltr.
Gaschromatogramm siehe Abbildung 16.

17. Umsetzung von Lactose mit DL-Alanin im Mol.-Verhältnis 3 : 1

- I. Das Gemisch Lactose/Alanin im Mol.-Verhältnis 3 : 1 erhitzt man während 35 Minuten auf 173°C. Die Aufarbeitung des entstehenden Reaktionsgemisches erfolgt nach 3.I.
Extraktionsrückstand: 3,1 (= ca. 1,2%).
- II. 36,7 mg Extraktionsrückstand werden in 323 mg Pyridin gelöst und mit 123 mg 1.1.1.3.3.3.-Hexamethyldisilazan und 53 mg Trimethyl-chlorsilan nach 2.I. silyliert.
- III. Gaschromatographische Trennung wie unter 2.II. beschrieben, Abschwächer 2.
Einspritzmenge: 1,0 μ ltr.
Gaschromatogramm siehe Abbildung 17.

18. Umsetzung von Saccharose mit DL-Alanin im Mol.-Verhältnis 3 : 1

- I. Saccharose und Alanin werden im Mol.-Verhältnis 3 : 1 in einer offenen Porzellanschale innerhalb von 10 Minuten auf 145°C erhitzt und weitere 20 Minuten bei dieser Temperatur gehalten. Die wässrige Lösung des Reaktionsgemisches extrahiert man erschöpfend mit Essigsäureäthylester.
Essigsterextraktausbeute: 2,74 g (= ca. 1%).
- II. 43 mg Essigsterextrakt löst man in 440 mg Pyridin und silyliert mit 130 mg 1.1.1.3.3.3.-Hexamethyldisilazan und 74 mg Trimethyl-chlorisan, wie unter 2.I. beschrieben.

III. Gaschromatographische Bedingungen, wie unter 2.II. beschrieben,
Abschwächer 2.

Einspritzmenge: 0,5 μ ltr.

Gaschromatogramm siehe Abbildung 18.

19. Umsetzung von Maltose mit DL-Alanin im Mol.-Verhältnis 3 : 1

I. Ein Gemisch von Maltose und Alanin wird im Mol.-Verhältnis 3 : 1
in 15 Minuten auf 135°C erhitzt und weitere 15 Minuten bei dieser
Temperatur belassen. Die wässrige Lösung der Reaktionsprodukte
extrahiert man mit Essigsäureäthylester.
Extraktausbeute: 0,94 g (= ca. 0,4%).

II. 30 mg Essigesterextrakt löst man in 300 mg Pyridin und silyliert
mit 120 mg 1.1.1.3.3.3.-Hexamethyldisilazan und 47 mg Trimethyl-
chlorisilan nach 2.I.

III. Gaschromatographische Bedingungen wie unter 2.II. beschrieben,
Abschwächer 2.

Einspritzmenge: 0,5 μ ltr.

Gaschromatogramm siehe Abbildung 19.

20. Umsetzung von Glucose mit Casein im Gew.-Verhältnis 10 : 1

I. In einer offenen Porzellanschale erhitzt man 250 g Glucose und 25 g
Casein innerhalb von 15 Minuten auf 175°C und hält diese Temperatur
weitere 15 Minuten. Das entstehende Gemisch behandelt man nach 3.I.
Extraktausbeute: 3,2 g (= ca. 1,3%).

- II. 35 mg Essigesterextrakt löst man in 450 mg Pyridin und silyliert unter Zugabe von 1,1,1,3,3,3,-Hexamethyldisilazan mit 55 mg Trimethylchlorsilan, wie unter 2.I. beschrieben.
- III. Gaschromatographische Bedingungen wie unter 2.II. beschrieben, Abschwächer 2.
Einspritzmenge: 0,5 μ ltr.
Gaschromatogramm siehe Abbildung 20.
21. Untersuchung von dunklem Biermalz
- I. 350 g eines dunklen Darrmalzes, bezogen von der Löwenbrauerei in München, werden maschinell (z.B. Multi-Mix) zerkleinert. Man versetzt den so gewonnenen Malzschrot mit 1500 ml heissem Wasser von 90°C und lässt ihn zwei Stunden unter gelegentlichem Umrühren stehen. Die Suspension wird von den groben Bestandteilen durch ein engmaschiges Sieb getrennt. 900 ml der gesiebten Suspension extrahiert man ca. drei Stunden im Perforator mit Essigsäureäthylester; dabei erhält man 0,9 g Extraktausbeute entsprechend einer Ausbeute von ca. 0,4%, bezogen auf 350 g Darrmalz.
- II. 37 mg des Essigsäureäthylesterextraktes werden in 380 mg Pyridin gelöst und mit 113 mg 1,1,1,3,3,3,-Hexamethyldisilazan und 43 mg Trimethylchlorsilan nach 2.I. silyliert.

- III. Gaschromatographische Bedingungen wie unter 2.II. beschrieben, Abschwächer 2.

Einspritzmenge: 1,0 μ ltr.

Gaschromatogramm siehe Abbildung 21.

22. Untersuchung von Starkbier

- I. 0,85 ltr. Flaschenbier mit einem Stammwürzgehalt von 18%, sog. "Starkbier", wird durch Schütteln entgast und dann mit Essigsäure-äthylester im Perforator über 3 Stunden ausgezogen. Man gewinnt auf diese Weise 0,8602 g vom Lösungsmittel befreiten Extrakt (= ca. 0,1%).

- II. 47 mg Extrakt werden in 365 mg Pyridin aufgenommen und durch Zugabe von 87 mg 1.1.1.3.3.3.-Hexamethyldisilazan und 60 mg Trimethyl-chlorsilan, wie unter 2.I. beschrieben, silyliert.

- III. Gaschromatographische Bedingungen, siehe 2.II. Abschwächer 2.

Einspritzmenge: 1,0 μ ltr.

Gaschromatogramm siehe Abbildung 22.

23. Untersuchung von diastatischem Malzextrakt

- I. 500 g diastatischer Malzextrakt (Hersteller: Diamalt, München) werden in 500 g dest. Wasser aufgenommen und mit Essigsäureäthylester 3 Stunden im Perforator extrahiert. Es können so 558 mg Extrakt, d.h. ca. 0,1%, bezogen auf die eingesetzte Menge Malzextrakt, gewonnen werden.

II. Man löst 15 mg des Extraktes in 90 mg Pyridin und silyliert mit 33 mg 1,1,1,3,3,3,-Hexamethyldisilazan mit 20 mg Trimethylchlorsilan nach 2.I.

III. Gaschromatographische Bedingungen wie unter 2.II. beschrieben, Abschwächer 2.

Einspritzmenge: 1,0 μ ltr.

Gaschromatogramm siehe Abbildung 23.

24. Untersuchung von Karamelbonbons

I. 360 g handelsübliche dunkle Karamelbonbons löst man durch Kochen in 500 ml dest. Wasser. Die wässrige Lösung wird mit Essigsäure-äthylester 3 Stunden im Perforator extrahiert. Die Essigsäureäthylesterphase ergibt einen Eindampfrückstand von ca. 8 g. Allerdings ist in dem Extrakt viel Fett enthalten, das durch Verteilung in den nicht mischbaren Lösungsmitteln Acetonitril/Petroläther nahezu quantitativ von den Zuckerabbauprodukten abgetrennt werden kann. Die Zuckerumwandlungsprodukte reichern sich im Acetonitril an. Abdampfrückstand der Acetonitrilphase 0,7 g (= ca. 0,2%, bezogen auf die eingesetzte Menge Karamelbonbons).

II. 42 mg Extrakt löst man in 250 mg Pyridin und silyliert mit 95 mg 1,1,1,3,3,3,-Hexamethyldisilazan und 50 mg Trimethylchlorsilan nach 2.I.

III. Gaschromatographische Bedingungen wie unter 2.II. beschrieben, Abschwächer 2.

Einspritzmenge: 0,4 μ ltr.

Gaschromatogramm siehe Abbildung 24.

25. Untersuchung von gebrannten Mandeln

- I. Gebrannte Mandeln werden zumeist aus industrieller Fertigung im Handel angeboten. Man übergiesst 300 g eines derartigen Produktes mit heissem Wasser von 90°C und löst dadurch die karamellisierte Überzugsmasse ab. Die Lösung wird von den Mandeln abgegossen und mit Essigsäureäthylester 3 Stunden im Perforator ausgezogen, 215 mg lösungsmittelfreier Extrakt können auf diese Weise gewonnen werden; allerdings ist dieser Extrakt noch fetthaltig. Zur Entfernung des Fettes wird der Rückstand der Essigesterextraktion zwischen den Phasen Petroläther/Acetonitril (je ca. 250 ml) verteilt. In der Acetonitrilphase reichern sich die Zuckerumwandlungsprodukte an. Abdampfrückstand der Acetonitrilphase 30 mg (ca. 0,01% bezogen auf die Einsatzmenge an gebrannten Mandeln).
- II. 1 mg des schmierigen Rückstandes löst man in 22 mg Pyridin und silyliert mit 22 mg 1.1.1.3.3.3.-Hexamethyldisilazan und 10 mg Trimethylchlorsilan (siehe 2.I.).
- III. Gaschromatographische Bedingungen wie unter 2.II. beschrieben, Abschwächer 2.
Einspritzmenge: 1,0 μ ltr.
Gaschromatogramm siehe Abbildung 25.

26. Untersuchung von Brotkruste

- I. Ungewürzte Graubrotlaibe schält man - d.h. die ca. 4 mm dicke Brotrinde wird entfernt. 220 g derartiger Brotrindenstücke kocht man 3 Stunden am Rückfluss in 1 ltr. Essigsäureäthylester.
Essigesterextrakt: 2,3 g.

II. 24 mg des Rückstandes werden in 210 mg Pyridin aufgenommen und mit 100 mg 1.1.1.3.3.3.-Hexamethyldisilazan und 40 mg Trimethylchlorsilan, nach 2.I., silyliert.

III. Gaschromatographische Bedingungen wie unter 2.II. beschrieben, Abschwächer 2.

Einspritzmenge: 0,8 μ ltr.

Gaschromatogramm siehe Abbildung 26.

27. Untersuchung von bitterer Schokolade

I. 100 g handelsübliche bittere Schokolade schlämmt man in 800 ml heissem dest. Wasser (90°C) auf. Die wässrige Suspension der bitteren Schokolade wird 3 Stunden im Perforator mit Essigsäureäthylester extrahiert. Beim Eindampfen der Essigsäureäthylesterphase bleiben 12 g einer hellbraunen, fetthaltigen Masse zurück. Zur Entfernung des Fettes wird der Rückstand zwischen den organischen Phasen Petroläther/Acetonitril (je ca. 250 ml) verteilt. Die eingeengte Acetonitrilphase hinterlässt 440 mg eines braunen Pulvers, das zur weiteren Untersuchung dient.

II. 30 mg des braunen Pulvers löst man in 90 mg Pyridin auf und silyliert durch Zugabe von 55 mg 1.1.1.3.3.3.-Hexamethyldisilazan und 31 mg Trimethylchlorsilan (siehe 2.I.).

III. Gaschromatographische Bedingungen wie unter 2.II. beschrieben, Abschwächer 2.

Einspritzmenge: 1,0 μ ltr.

Gaschromatogramm siehe Abbildung 27.

Lebenslauf

Wolfgang Schnell

geboren am 27.4.1943 in Velden/Vils
als Sohn des Dr. Josef Schnell und seiner
Ehefrau Herta, geb. Schmelzle

Schulen

1949 - 1953 Volksschule in München
1953 - 1962 Altes Realgymnasium in
München

Reifeprüfung

Juni 1962 in München

Berufsausbildung

WS 1962/63 bis SS 1964 einschliesslich
Studiengang Chemie an der Technischen
Universität München
WS 1964/65 bis WS 1967/68 Studium der
Lebensmittelchemie an der Universität
München

Vorprüfung (Lebensmittelchemie) 8.11.1965

Staatsexamen (Lebensmittelchemie) 20.12.1967

Vorliegende Arbeit wurde mit mehrmaligen Unterbrechungen in den
Jahren 1969 bis 1974 unter der wohlwollenden Anleitung von Herrn
Professor Dr. Th. Severin angefertigt.

